VÍRUS DA HEPATITE A
e sua relação com os
PARÂMETROS DE QUALIDADE DA ÁGUA PARA CONSUMO HUMANO



Diene Conceição Poiares Aranha
Denise Suellen Amorim de Sousa Santos
Lena Líllian Canto de Sá Morais

Atena Editora
Ano 2024

VÍRUS DA HEPATITE A
e sua relação com os
PARÂMETROS DE QUALIDADE DA ÁGUA
PARA CONSUMO HUMANO



Diene Conceição Poiares Aranha
Denise Suellen Amorim de Sousa Santos
Lena Líllian Canto de Sá Morais

Atena Editora
Ano 2024

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

Editora chefe
Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Editora executiva
Natalia Oliveira
Assistente editorial
Flávia Roberta Barão
Bibliotecária
Janaina Ramos
Projeto gráfico
Camila Alves de Cremo
Ellen Andressa Kubisty
Luiza Alves Batista
Nataly Evilin Gayde
Thamires Camili Gayde
Imagens da capa
iStock
Edição de arte
Luiza Alves Batista

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

Vírus da hepatite A e sua relação com os parâmetros de qualidade da água para consumo humano

Diagramação: Ellen Andressa Kubisty
Correção: Jeniffer dos Santos
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: Os autores
Autores: Diene Conceição Poiares Aranha
Denise Suellen Amorim de Sousa Santos
Lena Líllian Canto de Sá Morais

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

A662 Aranha, Diene Conceição Poiares
Vírus da hepatite A e sua relação com os parâmetros de qualidade da água para consumo humano / Diene Conceição Poiares Aranha, Denise Suellen Amorim de Sousa Santos, Lena Líllian Canto de Sá Morais. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2024.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-258-2380-5
DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.805241602

1. Hepatite A. 2. Abastecimento público. 3. Água. I. Aranha, Diene Conceição Poiares. II. Santos, Denise Suellen Amorim de Sousa. III. Morais, Lena Líllian Canto de Sá. IV. Título.

CDD 616.36

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access, desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce,* ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

AGRADECIMENTOS

A gradeço imensamente a Deus por ter me dado forças para superar as dificuldades.

A minha orientadora Drª Lena Líllian Canto de Sá Morais, por todo apoio, por estar sempre tirando minhas dúvidas, repassando seus conhecimentos e olha que são muitos, te agradeço imensamente pela oportunidade.

Aos meus queridos pais Artur Poiares e Conceição Poiares, pois foram os primeiros a orientar meus passos rumo ao conhecimento. Aos meus queridos irmãos (Dayse, Denise e Dayvison).

Aos meus amados filhos Jayene Aranha e Artur Aranha, que sempre me apoiaram, e compreenderam mesmo quando estava ausente.

A todos do Laboratório de Microbiologia Ambiental (Elivam, Walber, Tereza, Nayara, Naize, Geralda, Pio, Rita Felix) que de certa forma contribuíram para realização deste trabalho e principalmente, Denise Suellen Amorim de Sousa Santos que sempre estava dando apoio no laboratório e tirando minhas dúvidas, te agradeço de coração.

Um obrigado muito especial a Dona Liete Virgolino, que sempre esteve comigo em todo esse período, dando todo suporte no laboratório quando necessário, foram boas conversas, boas risadas, o tornou meus dias bem diferentes e mais divertidos. Muito, muito, muito obrigada!

Ao Msc. Bruno Carneiro, pela colaboração das análises físico-químicas referente a este projeto.

As meninas da Seção de Virologia, em especial a Dielle, Mônica, Thai, Juliana, Daniele, pelo apoio durante a visualização dos géis no laboratório.

Um muito obrigada ao Wallace e a Roberta nos momentos de dificuldade no sequenciador, estando sempre disponível para resolução de problemas.

Ao centro de Informação Tecnológica - CIT pela colaboração das análises em bioinformática e em especial ao Jedson pela análise filogenética.

A Fapespa e ao Programa de Pós-Graduação em Virologia pelo suporte financeiro.

Agradeço imensamente a todos que contribuíram de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

APRESENTAÇÃO

Este livro é voltado para o estudo do vírus da hepatite A 1 (VHA1) e sua profunda relação com os principais indicadores da qualidade da água destinada ao consumo humano. Sua importância vai além da análise científica do tema, abrangendo também a conscientização sobre a interligação entre a água que consumimos e a saúde de nossas comunidades.

Ao longo das páginas, os leitores serão conduzidos por uma jornada que abrange desde as características (VHA1) até os métodos de análise da qualidade da água. Exploraremos os principais indicadores que nos alertam sobre a presença de contaminantes, capacitando-nos a compreender como a prevenção e monitoramento eficazes podem ser cruciais na proteção da saúde pública.

O conteúdo aqui apresentado é fruto de uma extensa pesquisa, análise crítica e colaboração entre especialistas comprometidos a desvendar os segredos da interação entre o (VHA1) e a qualidade da água destinada ao consumo humano. Esta obra não só busca informar profissionais da saúde, pesquisadores e estudantes, mas também visa sensibilizar gestores públicos e a sociedade em geral sobre a urgência de políticas e práticas que assegurem o acesso a água potável segura.

Desta forma, nossa missão é promover a consciência, fornecer conhecimento e impulsionar ações que levem a melhorias concretas na qualidade da água e, por conseguinte, na prevenção da hepatite A. Este livro é um convite à reflexão, um chamado à ação e um recurso valioso para todos aqueles que buscam compreender e enfrentar os desafios relacionados à saúde pública e à água potável em nossas comunidades.

"*A mente que se abre a uma nova*

ideia jamais voltará ao seu tamanho original".

Albert Einstein

LISTA DE SIGLAS

ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
BLAST	*Basic Local Alignment Search Tool*- Ferramenta de Pesquisa de Alinhamento Local Básico
cDNA	C*omplementary DNA* - fita de DNA complementar
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
DNA	*Deoxyribonucleic acid* - ácido desoxirribonucleico
HCl	Ácido clorídrico
H_2SO_4	Ácido sulfúrico
IgM	Imunoglobulina tipo M
IgG-anti VHA1	Imunoglobulina tipo G contra o vírus da hepatite A 1
IgG	Imunoglobulina tipo G
Kb	Quilobase
L	Litro
M	Molar
m	Metros
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mM	Milimolar
MS	Ministério da Saúde
NaOH	Hidróxido de sódio
NCBI	*National Center for Biotechnology Information* – Centro Nacional de Informação Biotecnológica
Ng	Nanograma
Nm	Nanômetro
NMP	Número mais provável
OMS	Organização Mundial de Saúde
ORF	Fase aberta de leitura, do inglês "*Open Reading Frame*"
PCR	*Polimerase chain reaction* - Reação em cadeia da polimerase
pH	Potencial hidrogeniônico
RNA	*Ribonucleic acid* - ácido ribonucleico
rpm	Rotação por minuto
Pb	Pares de base
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
TE	Tris-EDTA
UV	Ultravioleta
VHA1	Vírus da Hepatite A 1
UFC	Unidade Formadora de Colônia
UFP	Unidade Formadora de placa

UT	Unidade de Turbidez
VP	*Virus protein* – proteína viral
VPg	V*irus protein genome* - proteína viral associada ao genoma
µg	Micrograma
µL	Microlitro
µm	Micrometro

O Vírus da Hepatite A 1 (VHA1) é o agente etiológico da hepatite A, doença diretamente relacionada ao baixo desenvolvimento econômico, falta de água potável e carência de saneamento. O Brasil é endêmico para hepatite A com destaque para as regiões Norte e Nordeste. A transmissão do vírus ocorre pela via fecal-oral, através da ingestão de água e alimentos contaminados ou por contato direto com uma pessoa infectada, que elimina grandes quantidades de partículas virais em suas fezes, contaminando os corpos hídricos. Este estudo teve como objetivo avaliar a qualidade microbiológica, físico-química e climatológica, incluindo a pesquisa do VHA1 em águas superficiais destinadas ao abastecimento público, bem como avaliar a água após tratamento no município de Belém no período de janeiro de 2012 a dezembro 2014. Um total de 108 amostras de água foram coletadas e analisadas mensalmente no Lago Bolonha (n=36), Lago Água Preta (n=36) e ETA (n=36). A concentração das amostras para detecção do VHA1 foi baseada no método de adsorção-eluição em membrana filtrante. O RNA viral foi extraído utilizando o kit comercial QIAamp Viral RNA (QIAGEN), seguida da transcrição reversa e *Nested*-PCR. Para sequenciamento foram utilizados amplicons obtidos na *Nested*-PCR. Os produtos foram purificados com Kit comercial Pure Link® PCR Purification (Invitrogen™) e submetidos a reação de sequenciamento utilizando o Kit *BigDye® Terminator Cycle sequencing* v 3.1 (Applied Biosystems), seguida de precipitação e posterior sequenciamento na plataforma 3130*xlGenetic Analyzer* (Applied Biosystems). Para alinhamento e edição das sequências utilizou-se o programa *Geneious* v. 7.1.8 e comparação com aquelas disponíveis no GenBank usando o programa BLAST do NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). Para colimetria utilizou-se o kit comercial Colilert 18 IDEXX©. De um total de 108 amostras, 44% (48/108) foram positivas, com destaque para o Lago Água Preta que apresentou maior percentual de amostras positivas 37,75% (18/48), seguido do Lago Bolonha com 31,25% (15/48) e saída da ETA com 31,25% (15/48), entretanto, esta diferença não é significativa (p=0.435). A densidade de *E.coli*, entre os lagos Bolonha e Água Preta foi significativamente diferente, com destaque para o Bolonha que se mostrou mais contaminado (p=0.0001). Na saída da ETA, o exame bacteriológico foi sistematicamente negativo, entretanto, em 41,93% (15/36) das amostras o VHA1 foi detectado, mostrando a permanência do vírus mesmo após o tratamento da água a ser distribuída para população. Entre as variáveis físico-químicas, foi observado associação positiva entre VHA1 e pH e associação negativa entre VHA1 e cloro livre e OD. Este estudo demonstrou a circulação de ambos os genótipos IA e IB em amostras de água superficial e na água de consumo humano. Os resultados apontam para degradação ambiental dos mananciais superficiais, além evidenciar que o processo de tratamento da água que resulta na ETA não interfere na ocorrência do VHA1, corroborando com a falta de correlação entre os indicadores bacteriológicos e a presença de vírus, o que chama atenção para necessidade de revisão da legislação vigente, tendo em vista, a disseminação do vírus no ambiente e o potencial de risco à saúde pública.

PALAVRAS-CHAVE: Vírus da Hepatite A 1 (VHA1); coliformes; abastecimento público; água de consumo humano.

ABSTRACT

The hepatitis A virus 1 (HAV1) is the etiologic agent of hepatitis A disease, directly related to economic development, lack of potable water and basic sanitation. Brazil is endemic for hepatitis A, especially the north and northeast regions. Transmission of the virus occurs by the fecal-oral route through the intake of water and contaminated food or by direct contact with an infected person, which eliminates large amounts of virus particles in their faeces, contaminating water bodies. This study aimed to evaluate the microbiological quality, physico-chemical and climatological, including VHA1 research in surface water for public supply, and evaluate the water after treatment in the city of Belém from January 2012 to December 2014. A total of 108 water samples were collected and analyzed monthly on Lake Bologna (n = 36), Lake Agua Preta (n = 36) and ETA (n = 36). The concentration of HAV1 in the samples for detection was based on the method of adsorption-elution in membrane filter. The RNA virus was extracted using the QIAamp Viral RNA commercial kit (QIAGEN), followed by reverse transcription and nested PCR. Amplicons were used for sequencing the obtained in nested PCR. The commercial products were purified with PCR Purification Kit Pure Link® (InvitrogenTM) and subjected to sequencing reaction using the kit BigDye® Terminator Cycle Sequencing v3.1 (Applied Biosystems), followed by precipitation and subsequent sequencing platform in 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems). The sequences were aligned and edited using the V Geneious program. 7.1.8 and compared with those available in GenBank using the BLAST program of the NCBI (National Center for Biotechnology Information). For colimetric assays the commercial kit IDEXX Colilert 18 © was used. From a total of 108 samples, 44% (48/108) were positive for the presence of viruses, especially the Black Water Lake with the highest percentage of positive samples 37,5% (18/48) followed by the Lake Bologna with 31,25% (15/48) and out of ETA with 31,25% (15/48), however, this difference was not significant (p = 0.435). The *E.coli* density, between Bologna and Black Water lakes was significantly different, especially the Bologna which was more contaminated (p = 0.0001). At the exit of ETA, the bacteriological examination was systematically negative, however, in 41,93% (15/36) of the samples the HAV1 was detected, showing that the virus remain even after treatment of water to be distributed to people. Among the physicochemical variables, positive association was observed between HAV1 and pH and negative association was observed between HAV1, free chlorine and OD. This study demonstrated the circulation of both IA and IB genotypes in surface water samples and water for human consumption. The results point to environmental degradation of surface waters, in addition to evidence that the process of water treatment that results in ETA does not interfere in the occurrence of HAV1, corroborating the lack of correlation between the bacteriological indicators and the presence of virus, which draws attention to the need to amend existing legislation with a view, the spread of the virus in the environment and the potential risk to public health.
KEYWORDS: hepatitis a Virus 1 (HAV 1); coliforms; public supply; water for human consumption.

SUMÁRIO

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO

A água é um dos elementos essenciais à vida de todos os seres vivos, sendo fundamental para sobrevivência do ser humano, portanto deve ser ofertada de forma satisfatória e segura. No entanto, a qualidade da água pode ser significativamente afetada pela presença de microrganismos entéricos patogênicos oriundos de esgoto não tratado desaguado em mananciais superficiais ou de maneira a contaminar os lençóis freáticos e até subterrâneos.

Várias doenças são causadas por patógenos como bactérias, protozoários, helmintos e vírus, que podem ser provocados pela ingestão de água contaminada. Os vírus entéricos podem ser transmitidos pela via fecal-oral, sendo eliminados em grandes quantidades pelas fezes de indivíduos infectados. Uma vez no ambiente, podem permanecer viáveis por meses na água, resistindo a condições ambientais adversas, bem como ao processo de tratamento da água destinada ao consumo humano, especialmente aquela para beber. Dentre os vírus entéricos que causam doenças, destaca-se o *Hepatovirus A* ou VHA1 (VHA1) que representa um risco para saúde pública, devido seu potencial de rápida disseminação pela via hídrica contaminada e causar infecções em humanos, mesmo quando presente em baixo número de partículas infecciosas na matriz aquática.

A infecção com VHA1 é a causa mais comum de hepatite viral aguda em todo o mundo. Existem aproximadamente 1,5 milhões de casos a cada ano. Sua incidência está intimamente associada com o desenvolvimento econômico, a falta de água potável e ao saneamento deficiente.

Atualmente a legislação brasileira considera as bactérias que fazem parte do grupo dos coliformes, como indicadores de contaminação fecal, sendo a *Escherichia coli* (*E.coli*) utilizada como medidor deste parâmetro. No entanto, a ausência da *E.coli* não caracteriza a ausência de contaminação por outros agentes como os vírus. A Portaria 2914/11 do Ministério da Saúde (MS), apenas sugere que os vírus sejam monitorados, principalmente na ocorrência de surtos. Dessa maneira a água destinada ao consumo humano deve atender a padrões de qualidade definidos por legislação vigente, entretanto a falta de correlação entre os atuais indicadores de qualidade, tem se mostrado falho no que se refere à potabilidade, principalmente.

Em Belém, capital do Estado do Pará, está localizado o manancial do Utinga, uma das principais fontes de abastecimento público que abastece aproximadamente 65% da população com água potável, sendo a Companhia de Saneamento do Pará (COSANPA) a responsável por este abastecimento. Este manancial encontra-se cercado por várias fontes de contaminação por despejo ilegal de dejetos humanos e de animais, além de estar localizado a aproximadamente 1,400 m do aterro sanitário do Aurá, recentemente desativado, porém seus depósitos permanecem impactando a área. Além disso, a exploração imobiliária permanece nas áreas do seu entorno de maneira desordenada e sem qualquer infraestrutura em termos de saneamento básico.

Face ao exposto, julgou-se imperativa a necessidade de avaliar a situação do manancial do Utinga, bem como, sua água após tratamento realizado pela COSANPA.

REVISÃO DA LITERATURA

2.1 VÍRUS ENTÉRICOS

Os vírus entéricos são aqueles presentes no trato gastrintestinal humano, capazes de causar infecções associadas a quadros de vômitos e diarreia em indivíduos suscetíveis, tendo como principal forma de transmissão à via fecal-oral (WYN-JONES; SELLWOOD, 2001).

Esses vírus pertencem a diversas famílias e gêneros, apresentando simetria icosaédrica e não apresentam em sua estrutura o envelope, o que os tornam altamente resistentes às condições ambientais (BOSCH et al., 2008), e são incapazes de se replicarem no ambiente (BORCHARDT et al., 2012). Le Baron et al. (1990) descreveram que estes vírus mesmo em baixas concentrações em água, podem presentar um risco significativo a saúde, uma vez que a dose infecciosa para muitos vírus é bastante baixa.

Atualmente existem mais de 140 tipos de vírus entéricos encontrados em ambientes aquáticos que podem causar uma ampla variedade de doenças em seres humanos, tais como gastroenterite, hepatite, meningite, conjuntivite e até mesmo diabetes (FOUNT et al., 2003), sendo que as principais estão relacionadas com a ingestão de água contaminada.

Até o presente momento não há um modelo ideal desenvolvido que possa determinar de forma confiável a presença dos vírus entéricos nas águas superficiais (JURZIK et al., 2010), uma vez que sua presença em diferentes sistemas aquáticos, ainda não foi documentada com sucesso, assim como ainda não há acordo sobre a adequação de alguns vírus como indicadores da qualidade da água (ROSARIO et al., 2009).

Entretanto, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (USEPA) ressalta a importância dos vírus entéricos, considerando estes os mais seguros e confiáveis para o monitoramento ambiental, por serem mais resistentes às variações de temperatura e presença de substâncias na água (KARAGANIS et al., 1983; RZEZUTKA; COOK, 2004).

Desse modo, alguns vírus entéricos vêm sendo propostos como indicadores de contaminação da água e dentre eles os mais estudados são os Adenovírus (AdV), Enterovírus (EV), Rotavírus (RV), os Norovírus (NoV) e o VHA1 (LUZ et al., 2012). Outros vírus também vêm sendo avaliados como indicadores como é o caso do Poliomavírus do tipo JC (JCPyV) (ALBINANA-GIMENEZ et al., 2009; FUMIAN et al., 2013) e Torque teno vírus (TTV) (GRIFFIN et al., 2008).

2.2 HEPATITE A

2.2.1 Trasmissão

A principal forma de transmissão do VHA1 é pela via fecal-oral, através do contato pessoa-a-pessoa, ou pela ingestão de água e alimentos contaminados por fezes de indivíduos infectados.

A pessoa infectada com o vírus da hepatite A é a forma mais comum de se evidenciar que houve contato com o microrganismo, pois o agente é capaz de sobreviver nas mãos e objetos inanimados (MBITHI et al., 1992; STAES et al., 2000), bem como durante viagens internacionais para regiões endêmicas ou ainda através do uso de drogas injetáveis que também podem levar ao desenvolvimento da infecção (GRINDE et al., 1997; KATZ et al., 1997). O risco também pode estar relacionado à atividade sexual, principalmente entre o homossexual gênero masculino, em função principalmente de contato oroanal, orogenital e dígito-retal (HENNING et al., 1995; KATZ et al., 1997).

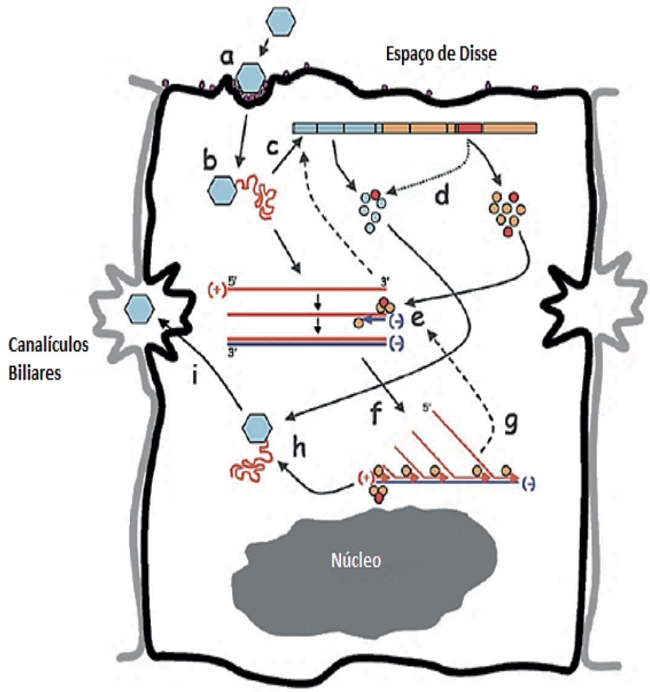
VHA1 não é transmitido de mães infectadas para os recém-nascidos, a transmissão intrauterina não ocorre porque os anticorpos Anti-VHA IgG presente durante a fase inicial da infecção atravessa a placenta, fornecendo proteção ao concepto (WHO, 2000; SELANDER et al., 2009). Segundo Santos e Lopes (1997), durante os primeiros 6 a 12 meses de vida é raro a ocorrência de sintomas de infecção pelo VHA1, admitindo-se que os anticorpos transmitidos pela mãe fornecem proteção contra a doença nesse período.

O vírus também pode ser eliminado na saliva dos pacientes, porém não há dados que possam sugerir sua transmissão (MACKIEWICZ et al., 2004), havendo também relatos de que o vírus possa ser excretado na urina de indivíduos infectados (GILES et al., 1964; HOLLINGER; EMERSON, 2007).

2.2.2 Patogênese

As partículas virais são ingeridas e adsorvidas no intestino delgado, transitam na corrente circulatória e chegam ao fígado através da circulação portal (PEREIRA; GONÇALVES, 2003). Os vírus se replicam nos hepatócitos a partir de uma cadeia de RNA com sentido negativo, que é originada a partir da cadeia de RNA com sentido positivo, por ação de uma RNA polimerase viral (PEREIRA; GONÇALVES, 2003). Após a montagem dos vírus estes são liberados para os canalículos biliares, indo para o intestino, juntamente com a bile, sendo eliminados com as fezes em grandes quantidades (MARTIN; LEMON, 2006) (Figura 1).

Figura 1 – Esquema do ciclo de replicação do VHA1



Fonte: adaptado - MARTIN E LEMON, 2006.

a) adsorção e penetração; b) liberação do RNA genômico; c) sítio de entrada do ribossomo medeia a tradução da poliproteína; d) processamento proteolítico pela protease; e) tradução de fitas negativas intermediárias do genoma viral; f) tradução de fitas positivas do genoma viral a partir de fitas negativas; g) fitas positivas utilizadas para a tradução de novas fitas negativas; h) fitas positivas formando novas partículas virais.

Os mecanismos responsáveis pela lesão hepatocelular, permanecem mal caracterizados, no entanto, o processo inflamatório ocasionado pelo o VHA1 parece ser atribuído à resposta do sistema imunológico à infecção no hepatócito, em vez de um efeito citopático direto do vírus (MARTIN; LEMON, 2006).

Tahaei et al. (2012), também afirmaram que a infecção é desencadeada por uma resposta imune contra as células infectadas, levando a destruição de células hepáticas, tendo como consequência, o extravazamento de enzimas do fígado como Alanina aminotransferase (ALT) e Aspartato aminotransferase (AST), que aumenta durante o curso da doença, além do acúmulo da bilirrubina o que faz com que a pele e os olhos a fiquem amarelados.

2.2.3 Manifestações Clínicas

As manifestações clínicas são bastantes variáveis, podendo ocorrer desde uma infecção assintomática ou mesmo evoluir para um quadro mais grave, levando à morte por insuficiência hepática aguda. Essas manifestações clínicas dependem da idade do hospedeiro, onde crianças menores de seis anos de idade são assintomáticas em sua maioria, enquanto que nos adultos infectados a maioria apresenta sintomatologia (HADLER et al., 1980; NAINAN et al., 2006).

Nos casos sintomáticos o paciente apresenta fadiga, febre, desconforto gastrointestinal, anorexia, náusea, vômito e a icterícia é verificada nas membranas das mucosas da conjuntiva e da pele (KOFF, 1992).

Os sintomas menos comuns incluem calafrios, mialgias, artralgias, tosse, diarreia, constipação, prurido e urticária (CUTHBERT, 2001). Os sinais físicos incluem hepatomegalia, esplenomegalia, bradicardia e linfadenopatia cervical posterior (KEMMER; MISKOVSKY, 2000; CUTHBERT, 2001).

O curso clínico da hepatite aguda pode ser dividido em diferentes fases, sendo a primeira chamada fase de incubação ou pré-clínico, que caracteriza o tempo entre a exposição ao vírus e o início dos sintomas. Durante esta fase, que varia de 15 a 50 dias, com média de 30 dias, o paciente permanece assintomático, apesar de replicação viral ativa e excreção viral nas fezes. Na fase pré-clínica, a transmissão do vírus é muito significativa, devido à elevada carga viral que é excretada (KOFF, 1998).

A segunda fase é caracterizada pelo aparecimento de sintomas não específicos, com intervalo de alguns dias antes do início da icterícia. Em mais da metade dos pacientes, este período é caracterizado pelos sintomas já mencionados (KOFF, 1992, 1998), além de outros sintomas tais como, corrimento nasal, tosse, cefaléia, também podem estar presentes. Tais sintomas tendem a diminuir com o início da icterícia, embora alguns possam persistir (KOFF, 1998).

A terceira fase é a ictérica começa com o aparecimento da colúria (urina escura), hipocolia (fezes esbranquiçadas), amarelamento da pele e membranas das mucosas. Esta surge após os primeiros sintomas, e não é observada em todos os casos sintomáticos da hepatite A (DE PAULA, 2012).

A hepatite fulminante pode ocorrer, mas é raro e a taxa de mortalidade para hepatite A é baixa, ocorrendo com mais frequência em adultos do que em crianças (CURHBERT et al., 2001). Além disso, o risco ainda é maior em pacientes com doenças hepáticas crônicas. Ainda são descritas uma variedade de manifestações extra-hepáticas tais como: hemólise, colecistite aguda, nefrite (CURHBERT et al., 2001).

2.2.4 Diagnóstico

O diagnóstico para hepatite viral pode ser realizado através dos ensaios para dosagem dos níveis das enzimas hepáticas e bilirrubina concomitante ao perfil sorológico do paciente (CURHBERT et al., 2001).

Os testes bioquímicos da função hepática podem ser usados como auxiliar para o diagnóstico da hepatite viral, e inclui a medição da bilirrubina total no soro, fosfatase alcalina, ALT e AST, mas apenas ALT é um teste específico para a hepatite. Em pacientes sintomáticos, o aumento de ALT e AST, fosfatase alcalina e bilirrubina ocorrem com freqüência (TONG et al., 1995). As concentrações de ALT e AST fornece uma avaliação quantitativa de lesões hepáticas durante a infecção aguda (DE PAULA, 2012).

Mas para confirmação do diagnóstico é necessário realização do teste sorológico para detecção de anticorpos Anti-VHA, sendo este imprescindível para identificação do agente etiológico, pelo fato dos sintomas agudos serem semelhantes aos de outras hepatites virais (DE PAULA, 2012). O Anti-VHA IgM é detectável quando surgem os primeiros sintomas e suas concentrações diminuem a níveis indetectáveis no prazo de 3 meses para a maioria dos pacientes. A imunoglobulina IgG aparece precocemente no curso da infecção e continua a ser detectável durante todo o tempo de vida da pessoa e fornece proteção contra reinfecção (WASLEY et al., 2006).

Os anticorpos Anti-VHA IgG e IgM podem ser detectados simultaneamente 1-2 semanas após o início dos sintomas. Os títulos de anti-VHA IgG sobe gradualmente, atingindo níveis elevados durante a fase de convalescença (STAPLETON et al., 1991). Anticorpos da classe IgA também são produzidos durante a infecção, mas por um tempo limitado (MACKIEWICZ et al., 2004) e tem importância na barreira intestinal. No entanto, estes anticorpos não mostram atividades neutralizantes (STAPLETON; LEMON, 1987). Apesar de não ser encontrada em todos os doentes, sua importância clínica até então era desconhecida (YOSHIZAWA et al., 1980).

Outros autores tem revelado que Anti-VHA IgG e IgA são detectados no soro, saliva, urina e fezes (LOCARNINI et al., 1978; ALMEIDA et al., 1999; SHAO et al., 2003; JOSHI et al., 2002). Para Laufer et al. (1995) os teste realizados com saliva tem se mostrado como uma ferramenta na triagem em investigações de surtos e estudos epidemiológicos. No entanto, a detecção de Anti-VHA na saliva é mais baixo quando comparado com o diagnóstico realizado no soro (OBA et al., 2000; MACKIEWICZ et al., 2004).

Considerando que a coleta de amostras de saliva é mais segura, não invasiva e mais barata que a coleta de sangue no campo de estudo epidemiológico, Amado et al. (2011) demonstrou a importância de se avaliar amostras de saliva em um surto de hepatite A o que poderia facilitar estudos de surtos do VHA1.

O diagnóstico molecular tem se tornado cada vez mais utilizado para pesquisa de infecção causada por vírus. A PCR (Polymerase Chain Reaction) é a técnica mais sensível

para a triagem de amostras clínicas (DE PAULA et al., 2003) e eficaz para o diagnóstico de infecção pelo VHA 1 (ARNAL et al., 1998; DE PAULA et al., 2004). Além disso, este método é amplamente utilizado para detecção do genoma do VHA1 em diferentes tipos de amostras como, por exemplo: soro, saliva, suspensão fecal e amostras ambientais (DE PAULA et al., 2003).

2.2.5 Epidemiologia

A hepatite A é uma infecção que ocorre no mundo inteiro, estando sua distribuição geográfica relacionada diretamente com nível de desenvolvimento socioeconômico e condições precárias de higiene. As condições que contribuem para a propagação do vírus entre as crianças nestas áreas incluem aglomeração familiar, baixos níveis de saneamento e abastecimento de água inadequado (SHAPIRO; MARGOLIS, 1993; JACOBSEN; KOOPMAN, 2005). Assim, em áreas com alta endemicidade como África, Oriente Médio, Índia, onde as infecções são geralmente assintomáticas e as epidemias são raras, 50% de soroprevalência é alcançada entre 5 a 14 anos de idade (MOHD HANAFIAH et al., 2011; CDC, 2015).

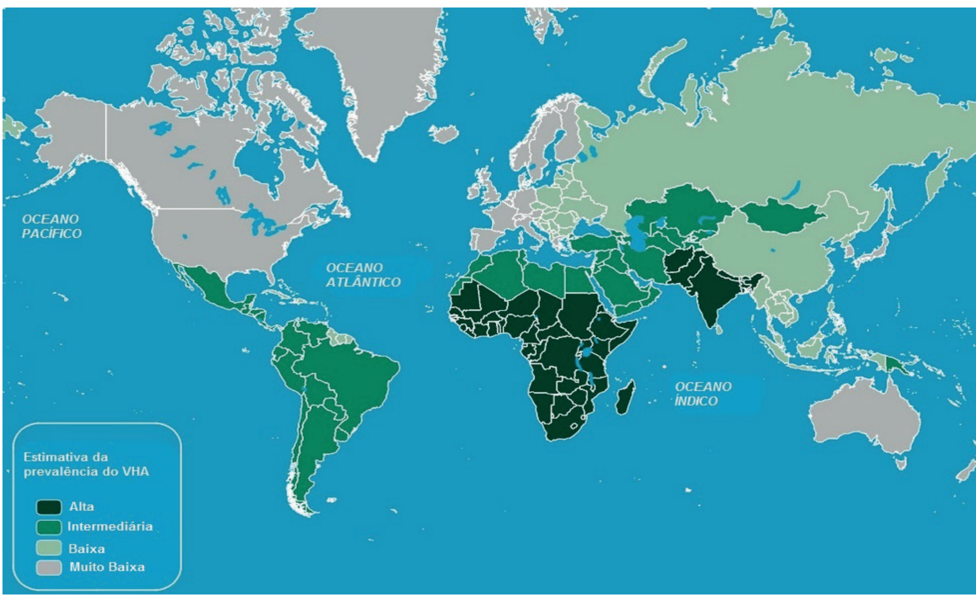
Em áreas de endemicidade intermediária como Europa oriental, Sudeste da Ásia, América Central e América do Sul (CDC, 2015), a soroprevalência é atingida entre os indivíduos de 14 a 34 anos de idade com ocorrências de epidemias, ou seja, a infecção ocorre entre os adolescentes e adultos jovens (COUDRAY-MEUNIER et al., 2014).

Nas áreas com baixa endemicidade como América do Norte, Europa ocidental e Austrália a maioria é suscetível ao VHA1, em especial as pessoas com mais de 50 anos de idade, onde o risco de hepatite fulminante é maior (COUDRAY-MEUNIER et al., 2014). A doença predomina nos grupos de risco específicos para adultos como: viajantes para países onde a hepatite A é endêmica, usuários de drogas injetáveis e homossexuais (SHAPIRO; MARGOLIS, 1993; BROMAN et al., 2010; WHO, 2014).

No Brasil a endemicidade para o VHA1 é considerada intermediária (Figura 2), sendo sua prevalência variável a níveis regionais. No período de 1999 a 2011 foram notificados no Sistema de Informação Nacional de Agravos de Notificação - SINAN 138.305 casos confirmados e a maior parte deles foram registrados na região Norte e Nordeste (BRASIL, 2012), conforme tabela 1. Na região Norte a distribuição dos casos de hepatite A, também diferem de um Estado para outros da Federação. Dos 32.282 casos confirmados no período de 1999 a 2011, mostram que os Estados do Amazonas e Pará foram os que mais apresentaram casos para a infecção, respectivamente 35,4% e 18,8%. Crianças acima de cinco anos de idade e adultos jovens foram os mais afetados. No período de 2000 a 2011 na região ocorreram 146 óbitos por hepatite A, a maioria no Estado do Pará (49,3%) (BRASIL, 2012).

De acordo com DATASUS foram registrado nos anos de 2007 a 2015, 19.698 casos de hepatite A na região norte, com maior número de casos no Estado do Amazonas com 5.698 casos e o menor em Rondônia com 788 casos. No Estado do Pará durante este período foram registrados 5.033 casos de hepatite A (Figura 3). No município de Belém foram registrados 394 casos de hepatite A, evidenciando o declínio no número de casos entre o período de 2007 a 2015 (Gráfico1). Foram verificadas ocorrências da doença em crianças com menos de um ano de idade em menores percentuais. Vale ressaltar que a maioria das crianças com menos de seis anos de idade são assintomáticas, portanto, não ocorrendo à notificação. De acordo com dados do DATASUS a população mais afetada compreendeu a faixa etária de 20 a 39 anos com 110 casos confirmados de hepatite A (Tabela 2). O sexo masculino (57,62%) é o mais atingido pela infecção quando comparado ao sexo feminino (42,38%).

Figura 2 – Distribuição geográfica do VHA 1: Áreas endêmicas de hepatite A no mundo



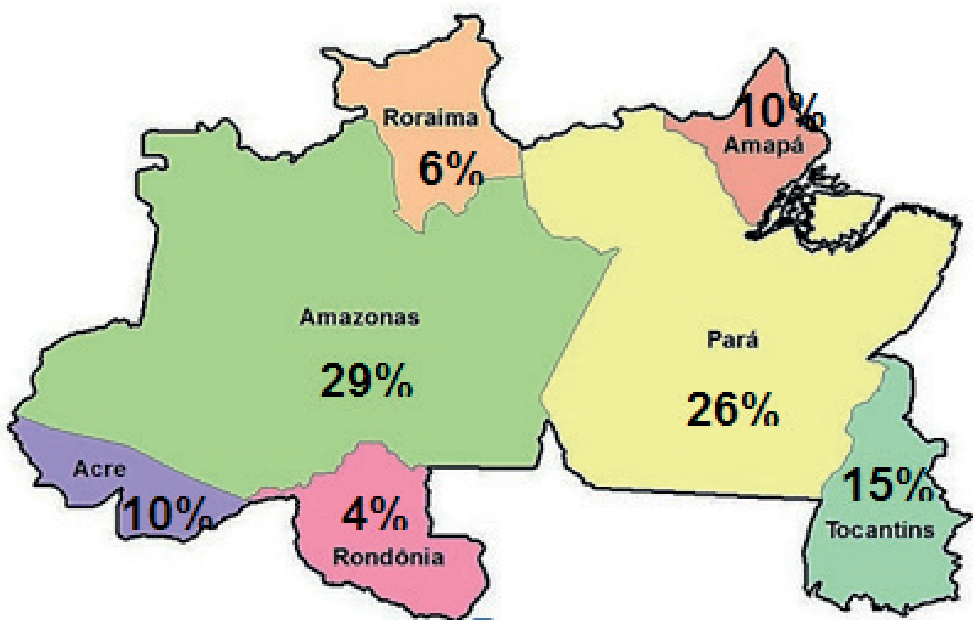
Fonte: Adaptado - TAHAEI et al., 2012.

Tabela 1 – Percentuais de casos confirmados de hepatite A por regiões brasileiras no período de 1999 – 2011

Regiões	Percentuais
Norte	23,3%
Nordeste	31,2%
Sudeste	16,1%
Sul	17,2%
Centro – Oeste	12,1%

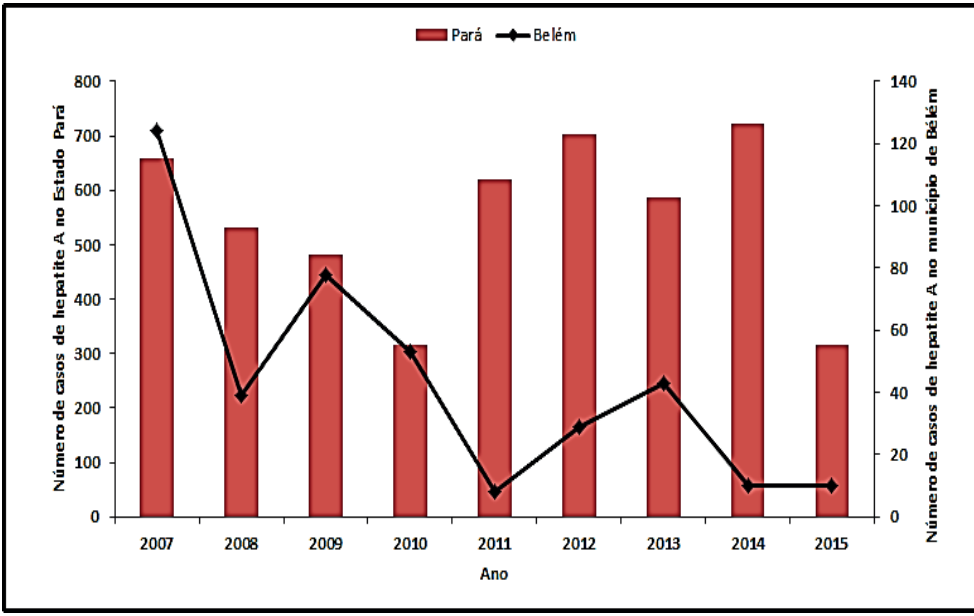
Fonte: Brasil, 2012.

Figura 3 – Percentuais de casos confirmados de hepatite A na região norte no período de 2007 a 2015



Fonte: DATASUS, 2015.

Gráfico 1 – Casos confirmados de hepatite A no Estado do Pará e município de Belém no período de 2007 a 2015



Fonte: DATASUS, 2015.

Tabela 2 – Distribuição de casos de hepatite A por faixa etária no município de Belém no período de 2007 a 2015

Faixa etária	Nº de Casos	Percentuais (%)
<1	05	2
1 a 4	19	5
5 a 9	79	19
10 a 14	81	21
15 a 19	88	22
20 a 39	110	28
40 a 59	10	2.5
60 a 64	01	0.25
65 a 69	00	00
70 a 79	01	0.25
80 a +	00	00

Fonte: DATASUS, 2015.

2.2.6 Tratamento e Prevenção

Não há terapia específica para doença causada pelo VHA1, os casos graves como insuficiência hepática aguda devem ser tratados em unidade de terapia intensiva e o transplante hepático pode ser considerado (PEREIRA; GONÇALVES, 2003).

A principal forma de prevenção é o abastecimento adequado de água potável e descarte adequado do esgoto combinado com práticas de higiene pessoal, reduz a propagação do VHA1 (WHO, 2014). A transmissão deve ser prevenida com adoção de medidas que evitem a exposição ao agente, tais como a higiene pessoal que inclui uma simples lavagem as mãos após o uso de sanitários e antes do preparo de alimentos, bem como a higienização de utensílios e tratamento de alimentos crus. Além disso, é necessário o melhoramento das condições de saneamento básico, visando redução na contaminação de água. Outras medidas necessárias são a imunização passiva com o uso de imunoglobulinas e a imunização ativa através da vacina (FERREIRA; SILVEIRA, 2004).

A disponibilidade de vacinas também é outra forma de prevenção, uma vez que conferem imunidade a longo prazo contra a infecção e tem o potencial de reduzir significativamente a incidência da doença e possivelmente, eliminar a transmissão da infecção (MARGOLIS 2000; BELL; FEINSTON, 2004; DOMINGUEZ et al., 2007).

Atualmente é recomendado que crianças menores de dois anos de idade sejam vacinadas contra a hepatite A (MATHENY; KINGERY, 2012). No entanto, a vacina também deve ser administrada aos grupos de risco, tais como homossexuais, usuário de drogas injetáveis e profissionais de saúde que estão em risco profissional de infecção (GARDNER et al., 1996). A imunização universal seria essencial para controlar a disseminação da hepatite A, embora, tenha seu custo elevado, o que limita a sua disponibilidade para público de modo geral (HOLLINGER et al., 1995).

A vacina está disponível no mercado desde a década de 90 e está composta por partículas virais inativadas, indutora de anticorpos direcionados contra o VHA1 (MARTIN; LEMON, 2006) tendo sido recentemente introduzida no Brasil estando presente no calendário de vacinação, sendo administrada em crianças de 1 ano de idade até 23 meses.

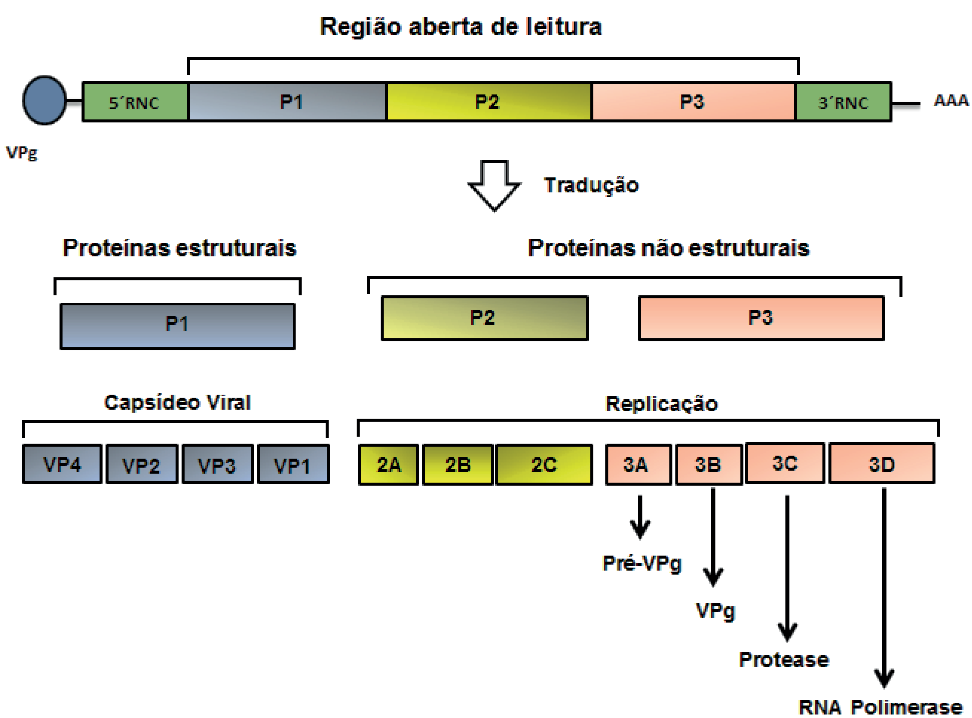
2.3 VÍRUS DA HEPATITE A 1 (VHA1)

O *Hepatovirus A* ou VHA1 foi identificado pela primeira vez em 1973, quando as partículas virais foram encontradas nas fezes de voluntários presos, nas quais o vírus foi inoculado (FEINSTONE et al., 1973). O vírus pertence à família *Picornaviridae*, tendo como único gênero *Hepatovirus,* espécie *Hepatovirus A* (ICTV, 2015). A partícula viral possui diâmetro de aproximadamente 27 nanômetros (nm), não apresenta o envelope em sua estrutura, e o genoma é constituído por uma molécula de RNA de polaridade positiva de aproximadamente 7,5 Kb (SIEGL, 1982).

O VHA1 possui genoma infeccioso, já que o RNA de fita simples atua como uma molécula mensageira para a tradução de polipeptídeos virais e como molde para replicação do genoma viral. A replicação ocorre no citoplasma do hepatócito infectado por um mecanismo envolvendo a RNA polimerase dependente do RNA (HOLLINGER; TICEHURS, 1996). O VHA1 replica-se muito lentamente em células de culturas, sem causar efeito citopático aparente e a sua adaptação a células de cultura requer uma série de passagens (HOLLINGER; EMERSON, 2001).

O genoma esta dividido em três regiões: uma região 5' não codificadora que representa cerca de 10% do genoma (734 a 740 nucleotídeos), ligada de forma covalente a proteína viral VPg; uma região intermediária que apresenta uma única fase aberta de leitura (*ORF*) (2.225 a 2.227 nucleotídeos), que codifica todas as proteínas virais, designadas pelas regiões P1 (proteínas do capsídeo), P2 e P3 que codificam as proteínas não estruturais associadas com a replicação; e uma pequena região na extremidade 3' (40 a 80 nucleotídeos), ligada a uma cauda poliadenilada (HOLLINGER; EMERSON, 2007).

Figura 4 – Representação da organização do genoma do VHA1 e suas principais proteínas

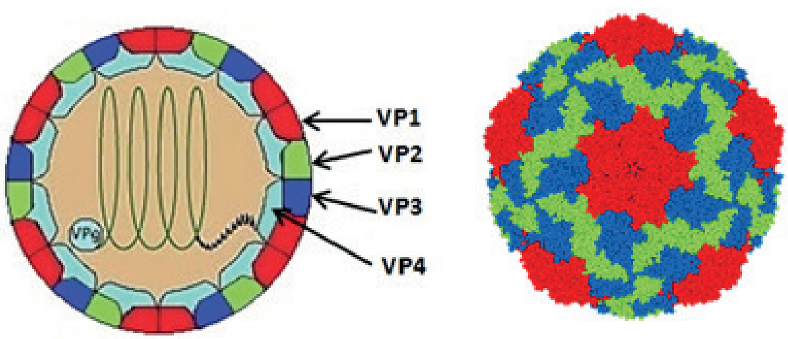


Fonte: Adaptado – PEREIRA; GONÇALVES, 2003.

A *ORF* codifica poliproteínas denominadas (P1, P2 e P3), que por clivagens resultam nas diferentes proteínas virais. P1 é clivada em quatro proteínas VP1 a VP4. O domínio P1 é o precursor dos domínios 1A-D, dos quais resultam as proteínas estruturais constituintes do capsídeo viral VP4 (1A), VP2 (1B), VP3 (1C) e VP1(1D). A VP4 é uma proteína viral do capsídeo, essencial para a formação do vírion, mas não é detectada nas partículas virais maduras. Os domínios P2 e P3 são precursores dos domínios 2A, 2B e 2C e 3A, 3B, 3C e 3D, respectivamente, dos quais resultam as proteínas não estruturais necessárias para o processo de replicação viral. O domínio 3B resulta na proteína VPg que é ligada à extremidade 5' do genoma, tem a função de iniciador da transcrição. O domínio 3C tem atividade de protease, enquanto que o produto do domínio 3D constitui a RNA polimerase do vírus (MELNICK, 1992) (Figura 4 e 5)

As regiões VP3, VP1 e VP1/2A apresentam algumas diferenças genéticas. A região VP3 é a mais conservada, VP1 apresenta variabilidade intermediária, enquanto a junção VP1/2A é mais variável (ROBERTSON et al., 2000; COSTA-MATIOLLI et al., 2002). A região de maior variabilidade do genoma que é a região da junção das proteínas VP1/2A, foi neste estudo utilizada para sequenciamento, a fim de identificar os genótipos circulantes.

Figura 5 – Representação das proteínas virais VHA 1



Fonte: http://www.rcsb.org/pdb/pv/pv.do?pdbid=4QPI&bionumber=1

O VHA1 inicialmente foi descrito apresentando sete genótipos com base na variação da sequência do fragmento de 168 nucleotídeos abrangendo a junção VP1/2A (ROBERTSON et al., 1992). No entanto, Lu et al., 2004 descreveram o genótipo II e VII como sendo um único genótipo com base na sequência completa da região VP1 e VP1/2A. A partir daí foram descritos seis genótipos virais (I a VI), sendo que os genótipos I, II e III apresentam subgenótipos A e B que são responsáveis por infectar humanos e outros três genótipos por infectar primatas. O genótipo VII foi reclassificado dentro do genótipo II como sub genótipo IIB (COSTA-MATTIOLI et al., 2003). Os genótipos I e III são os genótipos mais predominantes isolados de seres humanos (NAINAN et al., 2006). Perez-Sautu et al. (2011) propôs o surgimento do subgenótipo IC. D'Ándrea et al. (2015) revelou em seu estudo o surgimento do genótipo IC durante um surto de origem alimentar.

2.4 DISTRIBUIÇÃO DOS GENÓTIPOS E SUBGENÓTIPOS DO VHA 1

A circulação dos genótipos do VHA1 tem sido observada em vários países, com predominância de um único genótipo. Em países da Europa tem sido descrito circulação simultânea de diferentes genótipos, evidenciando que as amostras são oriundas de áreas com alto padrão de endemicidade (ROBERTSON et al., 1992).

No mundo o mais prevalente é o genótipo do tipo I que representa cerca de 80 % das amostras circulantes, o subgenótipo IA é relatado com mais frequência do que o genótipo IB (ROBERTSON et al., 1992) este sendo predominante no Oriente Médio (FITZSIMONS et al., 2010). Em países como Estados Unidos e Europa ocidental o subgenótipo IA é dominante, mas todos os genótipos e subgenótipos já foram relatados. Nainan et al. (2006), ainda conclui que a maioria das cepas podem ser identificadas como importadas com base nas análises filogenéticas. Na América do Sul, o genótipo I tem sido o único identificado, sendo que em países como Argentina, Uruguai e Chile (COSTA-MATTIOLI et al., 2001a), Costa-Rica, El Salvador (ARAUZ-RUIZ et al., 2001), Cuba (DIAZ et al., 2001), Venezuela (SULBARAN et al., 2010), os isolados são exclusivamente subgenótipo IA. No Brasil, a infecção pelo genótipo I se apresenta de caráter endêmico. Este é o único país da América do Sul onde se tem observado a circulação concomitante de ambos os subgenótipos IA e IB (DE PAULA et al., 2002; DEVALLE et al., 2003).

O genótipo III tem sido relatado em muitas partes do mundo, mas é prevalente no continente asiático. Com relato do subtipo IIIA na Coréia, Rússia, Estônia e Japão. Os subtipos IIIA e IIIB cocirculam amplamente com IA e IB (VAUGHAN et al., 2014). Já o genótipo II raramente é isolado e sua variabilidade genética é muito baixa, sendo encontrado em países como Serra Leoa, França (ROBERTSON et al., 1992) e parecem estar limitado a África Ocidental (DESBOIS et al., 2010).

2.5 ESTABILIDADE DA PARTÍCULA VIRAL NO MEIO AMBIENTE

Vários fatores podem interferir na sobrevivência e infecciosidade dos vírus no ambiente como, temperatura, radiação solar, umidade relativa do ar, pH, tipo de superfície, adsorção a sólidos, características estruturais das partículas (tamanho e ausência de envelope), presença de nutrientes e outros microrganismos (TANI et al., 1995; LIPP et al., 2001).

No que diz respeito à temperatura e radiação solar, observa-se uma maior sobrevivência viral em ambientes com temperaturas mais baixas e com menor exposição à luz ultravioleta (UV). A ausência de envelope na estrutura dos vírus torna-o mais resistentes a inativação por determinados compostos químicos como éter e cloro. Desta forma o VHA1 é um dos vírus que é resistente ao processo de cloração, pois permanece viável em águas tratadas com concentrações de cloro e cloreto livres normalmente empregadas no controle bacteriano (APPLETON, 2000; TAVARES et al., 2005).

Mbithi et al. (1991) estudando a sobrevivência do VHA1, principalmente o efeito da umidade do ar e temperatura, concluíram que a sobrevivência do vírus é inversamente proporcional ao grau de umidade e temperatura. Os vírus sobreviveram melhor a 5^0C do que a 20^0 ou 35^0 C. A 35^0 C e 95% de umidade relativa o vírus era indetectável após 4 h, enquanto que a 5^0 C e 95% de umidade relativa, 50% das partículas de vírus infeccioso permaneceu infecciosa.

Para Hurst et al. (1989) vários parâmetros físicos e químicos se tornam prejudiciais para a sobrevivência dos vírus entéricos em amostras de água de superfície, a turvação e sólidos em suspensão representam uma influência benéfica para a permanência do vírus no ambiente.

O VHA1 pode facilmente sobreviver e persistem em água doce ou salgada por até 12 meses (SOBSEY et al., 1988) e pode manter a sua infecciosidade por alguns dias ou semanas em fezes secas (MCCAUSTLAND et al., 1982).

2.6 INDICADORES MICROBIOLÓGICOS DE QUALIDADE DA ÁGUA

A avaliação da qualidade microbiológica da água potável tem como objetivo proteger os consumidores de doenças provocados por bactérias, vírus e protozoários (LIN; GANESH, 2013). Atualmente a utilização de um organismo indicador para avaliar a qualidade microbiológica da água já é bem estabelecida e tem sido praticada por quase um século (FIGUERAS; BORREGO, 2010).

Um organismo indicador para ser considerado ideal deve preencher os seguintes requisitos: ser de origem exclusivamente fecal; apresentar maior resistência que os patógenos aos efeitos adversos do meio ambiente e processos de tratamento; ser removido e/ou inativado por meio de tratamento de água pelos mesmos mecanismos e na mesma proporção que os patogênicos; apresentar-se em maior número que outros patogênicos; ser de fácil identificação; não se reproduzir no meio ambiente. No entanto, não existe um único organismo que satisfaça todas essas condições simultaneamente. Na ausência de um indicador ideal deve-se trabalhar com melhor indicador, ou seja, aquele que apresentem a melhor associação com os riscos à saúde na contaminação da água (BRASIL, 2006b). Sendo assim, os principais indicadores utilizados para monitoramento de água potável são os coliformes totais, coliformes termotolerantes, *E.coli*, enterococos e bacteriófagos (FIGUEIRAS; BORREGO, 2010). Outras espécies podem também ser utilizadas como indicadores alternativos de contaminação como as bactérias heterotróficas e ainda o *Clostridium perfringens* (LIN; GANESH, 2013).

Nenhum dos indicadores bacterianos atualmente utilizados para o monitoramento satisfaz todos os critérios estabelecidos para a qualidade da água (ASHBOLT et al., 2001; BITTON, 2005). A concentração de bactérias fecais pode proporcionar certo nível de indicação de vírus entéricos quando a contaminação se origina a partir de fontes humanas. Esta relação pode não existir quando a fonte de poluição é de origem animal (PAYMENT et al., 2000).

2.6.1 Grupos coliformes

As bactérias do grupo coliformes são formadas por bactérias da família *Enterobacteriaeceae* que incluem os gêneros: *Klebsiella; Eschechichia; Enterobacter; citrobacter; Kluyvera; Leclercia e* alguns membros da *Serratia* (NOGUEIRA et al., 2003), além do gênero *Yersinia (*CETESB, 2009). Destes apenas a *E. coli* é considerada como habitante exclusiva do trato intestinal do ser humano e animais homeotérmicos. Os demais, além de serem encontrados nas fezes, também podem ser encontrados na água, vegetais e no solo (BORREGO; FIGUERAS, 1997).

O grupo coliforme é normalmente usado como indicador da ausência ou da precariedade de um sistema de saneamento. Os coliformes não provocam doenças do trato gastrointestinal, sua presença na água apenas indica que a ingestão do líquido poderá provocar patogenias por outros grupos de microrganismos, já que no trato gastrointestinal, junto dos coliformes, podem ser liberados também outros organismos patogênicos. (VIEIRA; OLIVEIRA, 2001). Os coliformes totais têm sido considerados padrão primário de água potável, no entanto este tem sido questionado pelas agências reguladoras, associando estes tipicamente com a eficácia do tratamento (FIGUERAS; BORREGO, 2010). O grupo coliforme possui um subgrupo de bactérias denominadas coliformes termotolerantes. Sendo a espécie *E. coli*, bactéria exclusivamente de origem fecal. Coliformes termotolerantes apresentaram correlação positiva com a contaminação fecal de animais de sangue quente. No entanto, algumas bactérias coliformes termotolerantes em conformidade com esta definição também pertencem ao gênero *Klebsiella* e que tem sido isolado em amostras ambientais na ausência de contaminação fecal (FIGUERAS; ROBERTSON; BORREGO, 2000; TORANZOS et al., 2007). Assim como outros membros de bactérias termotolerantes, inclusive a *E. coli*, já foram encontradas em áreas intactas (HAZEN; TORANZOS, 1990).

Embora existam algumas desvantagens usando coliformes totais e coliformes fecais como indicadores, a detecção destes em água potável pode indicar falha no sistema de tratamento. Portanto, os coliformes ainda são reconhecidos como indicadores aceitáveis, especialmente nos processos de tratamento e desinfecção no sistema de tratamento de água (WHO, 2003). Segundo Cardoso et al. (2003) a presença de *E. coli* indica contaminação recente, já que eles não se multiplicam e nem persistem por um longo período, possuindo sobrevivência similar à de bactérias patogênicas. Em regiões temperadas os indicadores fecais tais como *E. coli* tende a morrer em águas devido a vários fatores como temperatura e nutrientes. Em regiões tropicais esses indicadores têm mostrado resultado um quanto duvidoso. Como por exemplo, na pesquisa de Hazen e Toranzos (1990), que encontram elevados números de *E. coli* na ausência completa de contaminação fecal.

Alguns estudos têm mostrado que a *E. coli* tem capacidade de persistir em ambientes secundários, tais como em água, solo, sedimentos e outros, sugerindo que podem se replicar nesses ambientes na ausência de contaminação fecal (BYAPPANAHALLI et

al., 2006; SIDHU et al., 2008; VIGNAROLI et al., 2013). A *E. coli,* é atualmente utilizada pelas estações de tratamento de água como indicador de maior representatividade da contaminação fecal (SILVA et al., 2005). Já foi estabelecido que esta contaminação não esta correlacionada com a presença de vírus entéricos. A presença de vírus e outros patógenos no ambiente é um indicador de contaminação fecal que constitui um risco potencial para uma população exposta, uma vez que tais agentes patogénicos não constituem a microbiota gastrointestinal normal, e só são excretados por indivíduos doentes (ABAD et al.,1997).

2.6.2 Enterecocos

Os Enterecocos são propostos como indicadores de contaminação fecal complementar aos coliformes fecais, devido à alta concentração nas fezes e alta taxa de sobrevivência no ambiente (NOBLE et al., 2003). O grupo é um valioso indicador bacteriano para determinação da extensão da contaminação fecal de águas superficiais recreacionais. Estudos em águas de praias marinhas e de água doce indicaram que as gastroenterites associadas ao banho estão diretamente relacionadas à qualidade das águas recreacionais e que os enterococos são os mais eficientes indicadores bacterianos de qualidade de água (CETESB, 2009).

Os estreptococos fecais satisfazem alguns dos critérios, embora não tanto quanto à *E. coli* e eles podem ser utilizados como indicadores complementares de poluição fecal ou verificar a eficiência do tratamento em certas circunstâncias (LIN; GANESH, 2013). Segundo Ashbolt et al. (2001) os enterococos podem ser usados para indicar a contaminação fecal e indicar indiretamente a presença de vírus.

2.6.3 Bactérias heterotróficas

As bactérias heterotróficas incluem todas as bactérias que usam nutrientes orgânicos para o seu crescimento, fornecem informações adicionais sobre eventuais falhas de desinfecção, colonização e formação de biofilmes no sistema de distribuição de água (BRASIL, 2006b). Servindo, portanto de indicador auxiliar da qualidade da água. A portaria 2914 /2011do MS estabelece que deva ser feita a contagem desta bactéria em 20% das amostras mensais em água tratada, não devendo essa contagem exceder 500 UFC/ml. As bactérias heterotróficas, só representam riscos se encontradas em altas concentrações, e sua enumeração é utilizada como um parâmetro complementar aos coliformes, uma vez que densidade elevadas de bactérias heterotróficas podem comprometer a detecção de bactérias do grupo coliformes (DOMINGUES et al., 2007).

2.6.4 *Clostridium perfringens*

Clostrídios Sulfito Redutor são bactérias anaeróbias formadores de esporos e o mais característico é o *Clostridium perfringens*. É normalmente encontrado nas fezes, embora seja encontrado em menor número que a *E. coli*. Entretanto, não são exclusivamente de origem fecal, podendo ser encontrados em outras fontes ambientais. Os esporos de clostrídios podem sobreviver na água por muito mais tempo do que o grupo coliforme e resistir à desinfecção. Sua presença em águas desinfetadas pode indicar deficiências no tratamento e presença de outros patógenos resistentes ao tratamento (PAYMENT, 1991).

Para alguns autores o monitoramento de *Clostridium perfringens* em água tratada pode fornecer benefícios para se avaliar a eficiência na remoção de organismos patogênicos resistentes, tais como, oocisto de *Cryptosporidium* e cisto de giárdia em sistemas de tratamento de água (HIRATA et al., 1993; FERGUSON et al., 1996), além de avaliar o risco de infecção de atividades recreativas (BROOKES et al., 2005; VIAU et al., 2011). Devido a essa constatação, *Clostridium perfringens* foi sugerido como um potencial indicador alternativo para o monitoramento da qualidade da água recreacional (BOEHM et al., 2009). Além de não se reproduzir em sistemas aquáticos (DESMARAIS et al., 2002). No entanto, para Vierheiling et al. (2013) os *Clostridium perfringens* não se justificam mais como indicador para monitoramento da poluição fecal da água, sugerindo que estes deva ser considerado como indicador conservador para excretas de animais selvagens não herbívoros e associado a esgoto humano.

2.6.5 Bacteriófagos

Os Bacteriófagos ou fagos são vírus que infectam bactérias e são conhecidos como colifagos. Os fagos são protótipos valiosos para os vírus entéricos, porque compartilham algumas propriedades como: morfologia, estrutura, tamanho e local de replicação. Além disso, é mais resistente aos fatores ambientais, o que tornam os colifagos, como os mais favoráveis indicadores de contaminação fecal que a *E. coli (*GRABOW, 2001; JURZIK et al., 2010). A sobrevivência e a incidência de fagos em ambientes de água se assemelham aos de vírus humanos mais perto do que a maioria dos outros indicadores bacteriana comumente usada (LIN; GANESH, 2013).

Vários grupos de bacteriófagos têm sido utilizados como indicadores fecais e virais, servindo como modelos para avaliar a eficiência da cloração de água potável (MORIÑIGO et al., 1992; BORREGO, 1995). Os grupos propostos são colifagos somáticos, bacteriófagos F^{-} especifico ou F-RNA RNA (fagos F-RNA) e fagos que infectam *Bacteroides fragilis* (HAVELAAR; HOGEBOOM, 1988; DURAN et al., 2003).

Os bacteriófagos, uma vez que são vírus que infectam bactérias, têm taxas de sobrevivência que são mais semelhantes as do vírus entéricos, e eles são muitas vezes usados como substitutos para os vírus entéricos para determinar a eficiência do tratamento.

No entanto, sua concentração na água, geralmente é insuficiente para torná-los úteis para avaliar seu tratamento (KOTT, 1981; GRABOW, 1986).

Os fagos são inativados por condições semelhantes aos das bactérias, os fatores mais significativos são a temperatura, sólidos em suspensão, atividade biológica e radiação solar (GRABOW, 2001). No estudo de Espinosa et al. (2009) os colifagos foram apresentados para serem complementar ou equivalentes a outros indicadores, sendo altamente recomendado incluí-los como indicadores de poluição fecal e como índice de vírus entéricos para programas de monitoramento da qualidade da água. E uma das vantagens da utilização de bacteriófagos como modelos de vírus entéricos é que seus ensaios são simples e baratos (PARK et al., 2011).

2.7 LEGISLAÇÃO

A resolução 357/2005 do CONAMA dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais. Esta resolução classifica os corpos d´água conforme sua destinação de uso (Quadro 1). As águas de superfície aqui estudadas, segundo esta resolução, podem ser classificadas como corpo d' água doce de classe 2, sendo destinadas ao abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional, uma vez que não foram enquadradas pelo órgão competente local.

No Brasil a Portaria 2914/2011 do MS dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Água de consumo humano é a água potável destinada à ingestão, preparação e produção de alimentos e a higiene pessoal, independente de sua origem. A água potável deve atender ao padrão de potabilidade estabelecido por esta portaria, para que não ofereça risco à saúde. Assim, estabelecendo a ausência de coliformes totais e *E. coli* em 100 mL de água na saída de tratamento. Esta Portaria, ainda recomenda o monitoramento de vírus entéricos nos pontos de captação de água provenientes de mananciais superficiais, com objetivo de subsidiar estudos de avaliação de risco microbiológicos. Não estabelecendo nenhum parâmetro ou metodologia aplicável para a pesquisa de vírus (LUZ et al., 2012).

No âmbito internacional, as diretrizes da qualidade da água no Canadá têm a *E. coli* como indicador de segurança microbiológica de água potável, enquanto que vírus entérico é referido apenas monitoramento (HEALTH CANADÁ, 2014). Segundo WHO (2011) menciona os vírus entéricos presentes na ausência do indicador de contaminação fecal e sugere outros organismos mais resistentes como indicador para a qualidade da água.

Quadro 1 – Classificação de aguas doces, segundo normas do CONAMA, quanto sua destinação

CLASSE	DESTINAÇÃO
Especial	• Abastecimento para consumo humano, com desinfecção; • Preservação do equilíbrio natural da comunidade aquática; • Preservação dos ambientes aquáticos em unidades de conservação e de proteção ambiental;
Classe 1	• Abastecimento para consumo humano, após tratamento simplificado; • Proteção das comunidades aquáticas; • Recreação de contato primário(natação,esqui aquático e mergulho • Irrigação de hortaliças que são consumidas cruas e de frutas que se desenvolvam rentes ao solo e que • sejam ingeridas cruas sem remoção de película; • Proteção das comunidades aquáticas em Terras Indígenas;
Classe 2	• Abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional; • Proteção das comunidades aquáticas; • Recreação de contato primário (natação, esqui aquático e mergulho; • Irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e de parques, jardins, campos de esporte e lazer, com os quais o público possa vir a ter contato direto, aqüicultura e à atividade de pesca
Classe 3	• Abastecimento para consumo humano, após tratamento convencional ou avançado; • Irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras; • Pesca amadora • Recreação de contato secundário • Dessedentação de animais.
Classe 4	• Navegação • Harmonia paisagística.

Fonte: Resolução CONAMA 357/2005

2.8 VÍRUS NO AMBIENTE E NA ÁGUA DESTINADA AO CONSUMO HUMANO

Surtos são relatados a cada ano no que diz respeito às doenças transmitidas pela água, sendo estas associadas a águas de recreação, água potável proveniente de manancial superficial e subterrânea, além de águas residuais. Sua transmissão depende da introdução de material fecal na fonte de água, e o tratamento inadequado ou interrompido da água destinada ao consumo (CRAUN et al., 2010; LAMBERTINI et al., 2011). Os vírus de veiculação hídrica são capazes de causar uma variedade de doenças agudas e a gastroenterites é a mais comumente relatada de acordo com tabela 3 (WARD et al., 1986; TEUNIS et al., 2008).

Em águas de recreação a ocorrência de vírus entéricos está relacionada com locais que não recebem tratamento, como lagos, rios, praias entre outros, em oposição aos locais que recebem tratamentos como parque aquáticos e piscinas. No entanto doenças de veiculação hídrica podem ocorrer em ambos locais. Em estudo de revisão realizado por Gibson, (2014) foram relatados 26 casos de surtos relacionados água de recreação tratadas e não tratadas no período de 2003 a 2008.

Tabela 3 – Vírus de preocupação primária para surtos de doenças transmitidas pela água

Família	Vírus	Propriedades	Doenças associadas
Adenoviridae	Adenovirus	90–100 nm, dsDNA	Conjuntivite, Gastroenterite, Doenças respiratórias
Astroviridae	Astrovirus	28–30 nm, ssRNA	Gastroenterite
Picornaviridae	Enterovirus	24–30 nm, ssRNA	Gastroenterites, encefalite, meningites, conjuntivite.
Picornaviridae		25-30 nm, ssRNA	Hepatite
Picornaviridae	HEV	25–30 nm, ssRNA	Hepatite
Caliciviridae	Norovirus	27–38 nm, ssRNA	Gastroenterites
Reoviridae	Rotavirus	70–75 nm, dsRNA	Gastroenterites

Fonte: Adaptado de Gibson, 2014.

No que diz respeito às águas subterrâneas é mais provável que esta esteja livre de microrganismos patogênicos, devido à filtragem natural que ocorre no ambiente (REYNOLDS, 2004). Muitas vezes a contaminação pode ser atribuída a falhas ou má instalações de um sistema séptico, não permitindo atenuação adequada dos patógenos, em especial os vírus, devido seu rápido movimento da superfície ao aquífero. (GUPTA et al., 2009; BORCHARDT et al., 2011). Ha vários relatos sobre a ocorrência de vírus entérico em poços individuais e municipais. Borchardt et al. (2012) relataram amostras positivas para (AdV, EV e NoV), além de terem estimado de 6% a 22% das gastroenterites, sendo estas atribuídas a água de torneira não tratada. Segundo Fout et al. (2003), a água potável não tratada foi responsável por aproximadamente 50% de surtos por água contaminada nos Estados Unidos. Na Coréia do Sul foi descrito que 17% a 22% das amostras foram positivas para NoV em água subterrânea (LEE et al., 2011).

Na água potável também tem sido descrito a ocorrência de patógenos virais. A França foi à força motriz para investigação da ocorrência de vírus entéricos em água potável (GIBSON, 2014). Na China foram relatados por Ye et al., 2012, que 100% das amostras foram positivas para RV e AdV e 21% para EV. Foi descrito por Lee e Kim (2002), que 4 % e 7% de amostras foram positivas para NoV GI e GII respectivamente. Segundo Gibson (2014), 12 surtos foram notificados no período de 2003 a 2010, dez surtos de NoV e dois surtos de VHA 1 em fontes água potável. O sistema de informação de saúde e ambiental europeu destacou que os dados disponíveis no período de 2000 a 2007 mostraram 148 casos de surtos causados por vírus entéricos, destes 136 foram de fontes de água potável e 12 de águas de recreação (WHO, 2007).

As águas residuais também são responsáveis por carrear vírus entéricos e têm sido descrito como uma importante fonte de disseminação. Prado et al. (2011), detectaram em seu estudo a presença de RV, NoV, AdV e VHA 1 em estações de tratamento de águas residuais provenientes de dois hospitais. Evidenciando assim o potencial de contaminação dessa matriz aquática.

2.9 METODOLOGIAS EMPREGADAS PARA CONCENTRAÇÃO VIRAL EM AMOSTRAS AMBIENTAIS

Os primeiros estudos que investigaram a filtração de vírus foram baseados no trabalho de Elford (1931) no qual o objetivo desse estudo foi determinar o tamanho da partícula do vírus (VER, 1968). Durante os anos de 1960 e 1970 houve um maior foco para o desenvolvimento de métodos para isolar e detectar vírus a partir de amostras de água e assim a expansão da virologia ambiental. Em 1975 a Organização Mundial de Saúde, formou grupos, promulgando métodos para isolamento do vírus a partir de amostras de água. Anos depois foram publicados métodos padronizados incluindo a concentração e detecção de vírus em água (GREENBERG; TARAS, 1981).

Os métodos para concentração de vírus em amostras ambientais são baseados em propriedades macromoleculares das proteínas virais que modificando sua carga elétrica em função do pH e da força iônica exercida ambiente (BOSCH,1998). As partículas virais apresentam polaridade, permitindo sua adsorção a uma variedade de matrizes carregadas como, por exemplo, as membranas. Estas ainda possuem massa molecular relativamente elevada, o que possibilita sua concentração por métodos de ultrafiltração e ultracentrifugação (WYN-JONES et al., 2001; BOSCH et al., 2008). Estas propriedades são levadas em consideração por diversos métodos desenvolvidos para concentração de partículas virais amostras ambientais.

Atualmente o método mais utilizado para a concentração do vírus se baseia na adsorção das partículas virais em filtros de microporosidade, carregados eletronegativamente, e posterior eluição em pequenos volumes (BOSCH et al., 2008; HIIL et al., 2009). No entanto, o uso de membranas carregadas negativamente tem o inconveniente de que as amostras devem ser previamente ajustadas, ou seja, a água tem que ser acidificada, e muitas vezes, sais precisam ser adicionados para facilitar a adsorção dos vírus aos filtros eletronegativos. Isso ocorre porque a maioria dos vírus entéricos é carregado negativamente no ambiente (BOSCH et al., 2008). Uma das desvantagens para concentração das partículas virais é o uso de grande volume de água, entretanto esse volume muitas vezes se faz necessário, uma vez que os vírus entéricos estão em níveis baixos no ambiente aquático (GIBSON et al., 2012). Outro método utilizado é a membrana carregada positivamente, que não exigem o pré-acondicionamento antes da filtração, trabalha confiando na carga negativa da partícula viral em água, mas faz uso de extrato de carne, o que acarreta em maiores inibidores, o que representa um dos maiores inconvenientes para detecção do vírus, gerando resultados falsos negativos (SCHWAB et al., 1995).

2.10 TÉCNICAS PARA DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE PARTICULAS VÍRAIS EM AMOSTRAS DE ÁGUA

A Biologia Molecular vem sendo utilizada na Virologia Ambiental desde a década de 90 (ABBASZADEGAN et al., 1993; FONG; LIPP, 2005), a PCR é um método que possibilita amplificação e detecção de quantidades de partículas virais, uma vez que uma única cópia do genoma viral é suficiente, possibilitando ainda informações quanto aos genótipos do vírus para epidemiologia da doença e para programas de vacinação (BOSCH et al., 1998; CARTER, 2005; BOSCH et al., 2008).

Devido à alta sensibilidade, a PCR é capaz de detectar partículas virais mesmo quando essas são incapazes de causar efeito citopático nas células de cultivo (LEE; JEONG, 2004). Uma das desvantagens da PCR é a incapacidade de diferenciar entre o vírus infeccioso e não infeccioso. Essa limitação tem levado o emprego desta técnica associado à técnica de cultura celular (RODRIGUEZ et al., 2009), que atualmente é o método recomendado pela USEPA para monitoramento de vírus em amostras ambientais (CARTER, 2005). Este método é considerado padrão ouro para quantificação do vírus infeccioso, no entanto as condições em que muitos vírus entéricos devem ser cultivados, ainda não são conhecidas (MATTISON; BIDAWID, 2009), além de outros vírus crescerem lentamente ou não produzir efeito citopático (BOSCH et al., 2011).

A presença de inibidores encontrados comumente em amostras ambientais como a presença de cátions, ácidos húmicos e metais, tem revelado sua limitação diante de amostras ambientais, gerando resultados falsos negativos (FONG; LIPP, 2005). A realização de PCR é de grande importância para o sequenciamento das amostras, pois este é utilizado para definir a diversidade viral em amostras de água de recreação e água potável (WILLIAMSON et al., 2008; ROSARIO et al., 2009), e em amostras de fezes (FINKBEINER et al., 2008). Borchardt et al. (2012) demostraram em seu estudo que os resultados de qPCR possam estar subestimados, atribuindo este fato, as perdas de vírus durante ao processo de filtração da amostra, concentração secundária e etapas de extração de ácidos nucleicos.

Hamza et al. (2009), observou que vírus não-envelopado com genoma de DNA, como AdV , resistem a inibições que possam ocorrer em técnicas moleculares pela presença de compostos diversos nas amostras de água, enquanto que a detecção dos vírus não-envelopados dotados de genoma de RNA, devido à etapa adicional de transcrição reversa, pode ser mais afetada pela presença destes compostos, o que dificulta a detecção de patógenos virais em amostras ambientais (CARMELATO et al., 2011).

2.11 IMPORTÂNCIA DA PESQUISA DOS VÍRUS ENTÉRICOS NOS MANANCIAIS DE ABASTECIMENTO PÚBLICO

Entende-se por manancial de abastecimento público todo o corpo de água doce superficial e subterrânea, utilizada para consumo humano ou desenvolvimento de atividade econômica, devendo este ser alvo de atenção específica (BRASIL, 2015).

De acordo como Plano Municipal de Saneamento Básico (PMSB) do município de Belém (2014), a COSANPA é a responsável pelo fornecimento de abastecimento de água potável, que atende o município de Belém e outros municípios, utilizando mananciais superficiais e subterrâneos para atender a população. A Região Metropolitana de Belém (RMB) é formada por cinco municípios: Belém, Ananindeua, Marituba, Benevides e Santa Bárbara, e mais recentemente o município de Santa Isabel do Pará cuja população estimada para 2014, foi de 2.129.515 habitantes, segundo IBGE (Tabela 4).

Belém compreende a maior parte da população e também a maior demanda por parte do abastecimento de água potável. A COSANPA gerencia os municípios de Belém, Ananindeua e Marituba, enquanto o Sistema Autônomo de Água e Esgoto de Belém - SAAEB atua nos distritos de Icoaraci, Mosqueiro, Outeiro e em áreas periurbanas do município de Belém. As prefeituras municipais de Benevides, Santa Barbara são responsáveis pelos sistemas de abastecimentos em seus próprios municípios.

Tabela 4 – Distribuição da população na RMB

Municípios	*População (hab.)
Belém	1.432.844
Ananindeua	499.776
Marituba	120.305
Benevides	57.393
Santa bárbara	19.197

Fonte: IBGE 2014.

*População estimada

Segundo PMSB A produção de água atende cerca de 75% da RMB e 70% das águas são provenientes de mananciais superficiais e 30% são provenientes de mananciais subterrâneos. A COSANPA atualmente gerencia 56 setores de abastecimento de agua, sendo 19 com água de manancial superficial (tabela 5) e 37 setores com água de manancial subterrâneo. O manancial de água superficial é formado por um sistema integrado, divididos em 4 sistemas de abastecimentos de água, sendo constituídos por unidades de adução, reservação, elevatório e rede de distribuição.

Tabela 5 – Sistemas de abastecimento de água superficial

SISTEMA	ÁGUA BRUTA	ETA	SETORES
Utinga- São Braz	Lago Bolonha	São Braz	1º, 2º, 3º e 4º
Utinga- 5º setor	Lago Bolonha	5º Setor	5º
Zona central	Lago Bolonha	Bolonha	6º, 7º, 8º e 9º
Zona de expansão	Lago Bolonha	Bolonha	12º, 13º, 14º, 28º, 29º, 30º, 31º, 32º, 33º e 37º

Fonte: PMSB, 2014

O rio Guamá, o lago Água Preta e o lago Bolonha são os mananciais utilizados no abastecimento de água superficial que atende a maior parte dos municípios de Belém e Ananindeua. Os lagos foram formados por meio de construção de barragens e são reforçados pelo sistema adutor que leva água do rio Guamá. A água do lago Bolonha é recalcada por 2 estações elevatórias de água bruta (Bolonha e Utinga) e para 3 Estações de Tratamento de Água (ETA) (Bolonha, São Braz e 5º Setor). O manancial subterrâneo utiliza um sistema isolado por meio de poços tubulares de grandes profundidades. Os sistemas são constituídos por estação de tratamento, reservatório apoiado, estação elevatória de água tratada, reservatório elevado e rede de distribuição. Entretanto, nem todos os sistemas são dotados de unidades de tratamento de água.

Outro serviço prestado pela COSANPA é o de esgotamento sanitário, que compreende 37,63% do município de Belém. O lançamento indevido de esgoto sem tratamento leva a poluição e contaminação dos corpos hídricos, sendo prejudicial ao meio ambiente e oferece risco a saúde da população. Neste sentido torna-se imprescindível a pesquisa de vírus entéricos, principalmente do VHA1 que é o objeto de estudo nos mananciais superficiais destinados ao consumo humano.

OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a ocorrência do VHA1 em águas superficiais destinadas ao abastecimento público, bem como avaliar a água na saída de tratamento (ETA) no município de Belém no período de janeiro de 2012 a dezembro 2014.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Detectar o genoma do VHA1 nas amostras de água coletadas;
- Quantificar e descrever estatisticamente os indicadores bacteriológicos de qualidade nas amostras de água coletadas;
- Determinar e descrever estatisticamente as variáveis físicas e químicas nas amostras de água coletadas;
- Descrever estatisticamente as variáveis climatológicas que interferem na área de estudo;
- Correlacionar as variáveis bacteriológicas, físico-químicas e climatológicas entre si e com a presença do VHA1;
- Determinar os genótipos e subgenótipos do VHA1 circulantes.

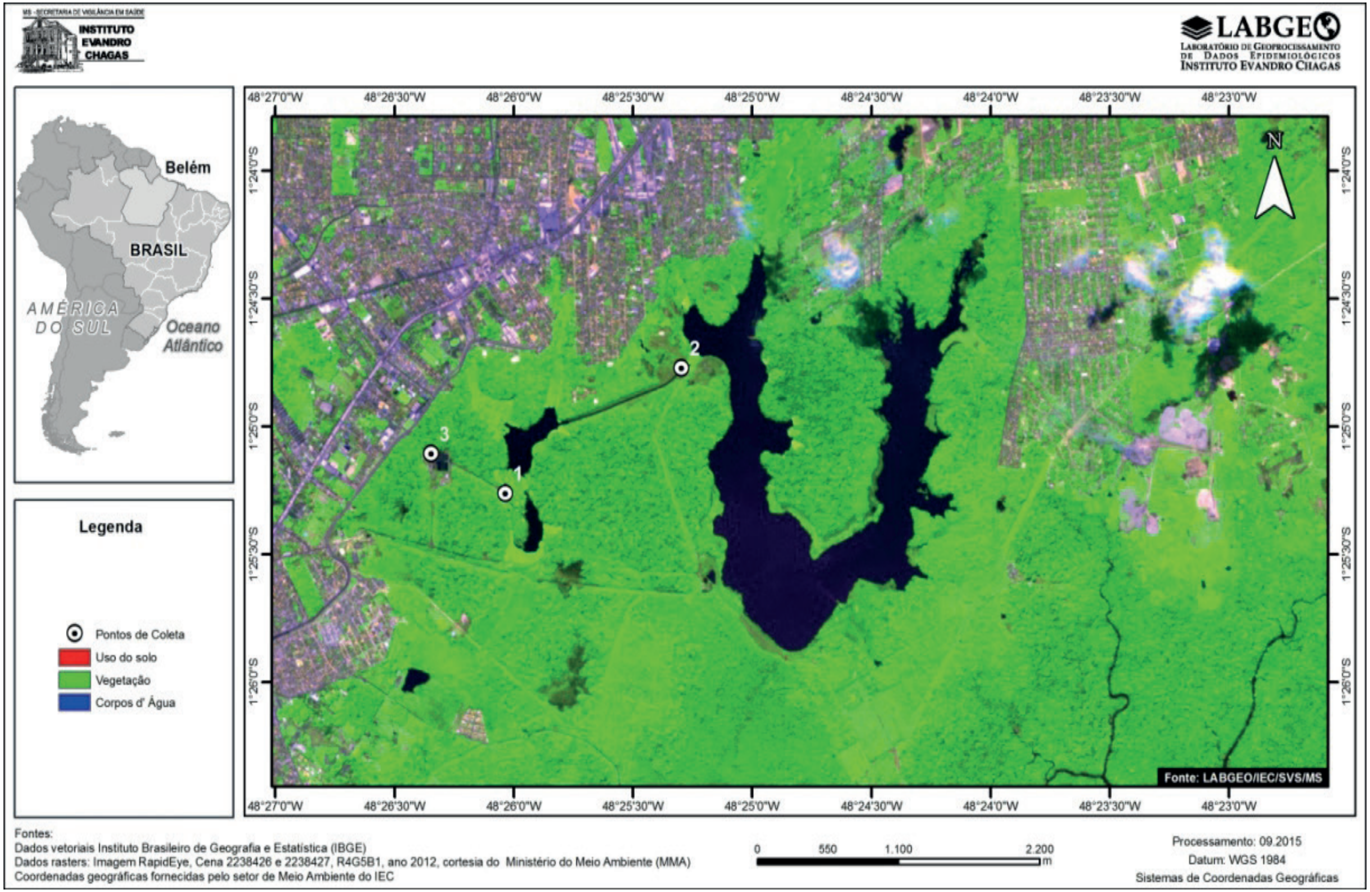
MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DESCRIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

A área de estudo compreende os mananciais de água superficiais que são responsáveis pelo abastecimento de água no município de Belém e parte de Ananindeua. Os lagos Bolonha e Água Preta estão localizados no Parque Estadual do Utinga considerado uma Área de Proteção Ambiental. Na figura 6 pode-se observar que o Lago Bolonha é o menor em extensão, possuindo uma área de aproximadamente 2 Km^2 e Lago Água Preta com uma área de 7,2 Km^2, que nasce no município de Ananindeua, percorre grande extensão de área habitada desse município, e atinge o município de Belém (TEIXEIRA , 2003).

Os lagos são abastecidos pela bacia hidrográfica do Rio Aurá, parte do Igarapé Tucunduba e Uriboquinha, sub-bacias do igarapé Mucutum e Água Preta, além de um sistema de captação implantado pela COSANPA instalado as margens do rio Guamá sendo responsável por manter os níveis de água entre os dois lagos, este sistema de bombeamento transporta água do rio Guamá em direção ao Lago Água Preta, que encaminha para ao Lago Bolonha por meio de um canal (SODRE, 2007).

Figura 6 – Localização da Área de Estudo



Fonte: LABGEO/IEC/SVS/MS PT01- Lago Bolonha PT02- Lago Agua Preta PT03- ETA

4.2 AMOSTRAGEM

As amostras foram coletas mensalmente no período de janeiro de 2012 a dezembro 2014 conforme quadro 2. As coletas foram realizadas sempre no mesmo ponto, aproximadamente 20 cm abaixo da superfície, no período matutino, nos dois lagos, a primeira coleta foi realizada no canal do Lago Água Preta localizados nas coordenadas S 01º24'46" W 048º25'16.8", em razão de sua distância, a segunda amostra foi coletada no Lago Bolonha com coordenadas S 01º25'15.3" W 048º26'02.6", próximo ao ponto de captação de água ETA Bolonha e a terceira amostra foi obtida diretamente da torneira na saída da Estação de Tratamento de Água (ETA) com coordenadas S 1º25'07.8" W 048º26'22.1".

Quadro 2 – Número de amostras coletadas no Lago Bolonha, Lago Água Preta e ETA Bolonha no Parque Estadual do Utinga no município de Belém/Pará, Ano janeiro 2012 a dezembro 2014

Ano	Lago Bolonha*	Lago Água Preta‡	ETA§	TOTAL
2012	12	12	12	36
2013	12	12	12	36
2014	12	12	12	36
TOTAL	**36**	**36**	**36**	**108**

*PT01- Lago Bolonha ‡PT02- Lago Agua Preta §PT03- ETA

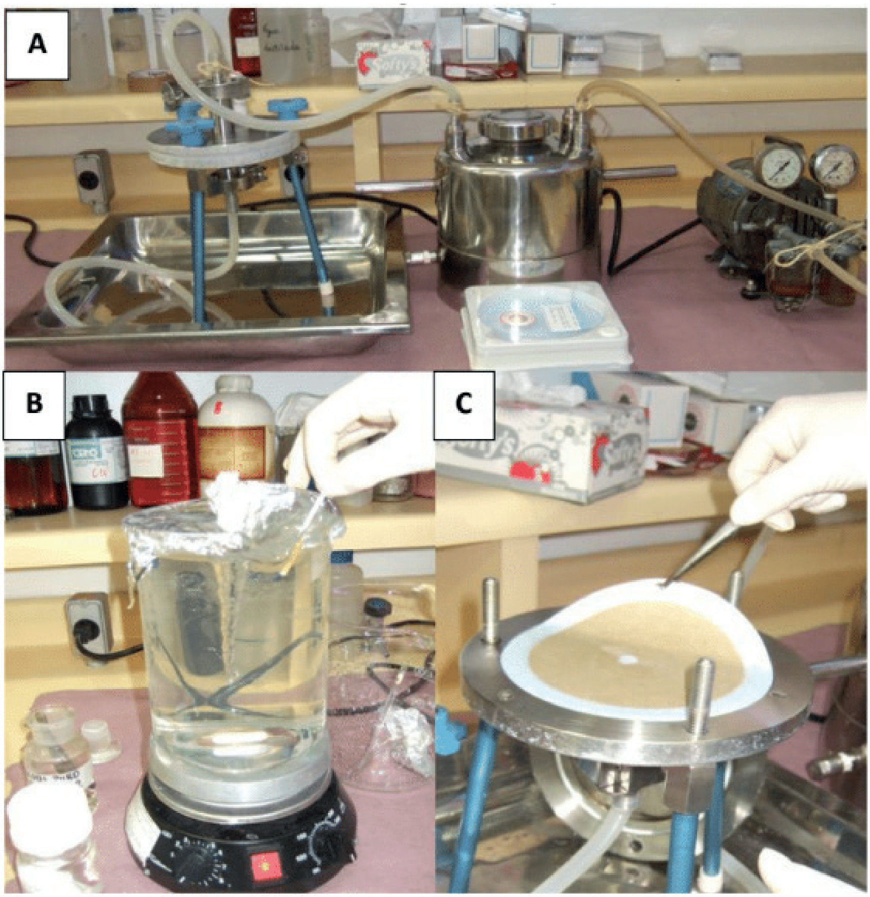
4.3 ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS

As amostras coletadas foram armazenadas em vasilhames de polipropileno esterilizados com capacidade de 4 L de água, sendo acondicionadas em caixas térmicas para pesquisa de vírus. Para análise de bactérias foram coletadas amostra de água na saída da ETA, sendo armazenada em saco NASCO de 100 mL contendo tiossulfato, sendo mantida em caixa térmica. Foram também coletadas amostras para análises físico-químicas. Todas sendo transportada a seção de meio ambiente do Instituto Evandro Chagas, para processamento das amostras.

4.4 CONCENTRAÇÃO VIRAL

As partículas virais presentes nas amostras foram concentradas pelo método de adsorção-eluição adaptado de Katayama *et al.* (2002). As amostras foram filtradas utilizando um sistema de filtração, constituído por uma bomba de vácuo, um recipiente de pressão e um suporte de membranas (figura 7).

Figura 7 – Método de concentração viral a partir de amostras de água



Fonte: Arquivo pessoal

a) sistema de concentração Millipore; b) acidificação e ajuste do pH; c) membrana HA após filtração.

Foram adicionados à amostra 1.200 mg de cloreto de magnésio (MgCl2), ajustando o pH para 5,0 com a adição de ácido clorídrico 6 N (HCl). Em seguida, a mesma foi filtrada em membrana HA carregada negativamente (142 mm de diâmetro, malha de 0,45 µm, Millipore®) acoplada ao suporte do sistema de filtração. A membrana foi rinsada com 300 mL de ácido sulfúrico 0.5 mM, pH 3 (H2SO4). Os vírus foram eluídos em 15 mL de hidróxido de sódio 1 mM, pH 10,5 (NaOH, Vetec, Brasil) por agitação em placa de Petri durante 10 minutos. O eluato foi neutralizado pela adição de 50 µL de H2SO4 50 mM e 50 µL de tampão Tris-EDTA (TE) 100X (10µM Tris, 1mM EDTA, pH 8,0) e transferido para um concentrador de amostras líquidas Amicon Ultra-15 (Millipore, Brasil). Em seguida, foi realizada centrifugação a 5.000 rpm por 15 minutos a 4°C, resultando em um volume final de 2 mL, o qual foi estocado a -20°C para posterior extração do material genético.

4.5 DETECÇÂO VIRAL

4.5.1 Extração do Ácido Nucleico

Para obtenção do RNA viral utilizou-se o Kit "*QIAmp® Viral RNA Mini Kit*" (Qiagen, Valencia, Espanha) conforme instruções do fabricante, cujo fundamento baseia-se nas propriedades seletivas de ligação do RNA a membrana de sílica-gel combinadas à centrifugação em alta velocidade. Em um microtubo de 1,5 mL contendo substância carreadora de RNA, adicionou-se 560 µL de tampão de lise (AVL) e 140 µL da amostra concentrada, sendo homogeneizada por 15 segundos por agitação em vórtex e incubada a temperatura ambiente por 10 minutos, tempo suficiente para a completa lise das partículas virais. Após período de incubação, 560 µL de etanol (96 – 100%) gelado foi adicionado à mistura agitando por 15 segundos. Em dois passos, a solução mistura foi transferida para o tubo contendo uma coluna com membrana de sílica-gel em seu interior: 630 µL transferido à coluna e centrifugado a 8.000 rpm por 1 minuto à temperatura ambiente, o tubo coletor contendo o filtrado foi descartado. Após as centrifugações, 500 µL de tampão de precipitação AW1 foi cuidadosamente adicionado a coluna e então centrifugado a 8.000 rpm por 1 minuto. A coluna foi transferida para novo tubo coletor, sendo o anterior contendo o filtrado descartado. Um volume de 500 µL de tampão de lavagem AW2 foi adicionado à coluna e centrifugado a 14.000 rpm por 3 minutos, o filtrado descartado, e uma nova centrifugação a 14.000 rpm por 1 minuto foi realizada para eliminar possíveis traços do tampão AW2, uma vez que pequenas concentrações desse reagente podem interferir na amplificação do RNA. A coluna foi transferida para um microtubo de 1,5 mL estéril, devidamente identificado, sendo em seguida adicionados 50 µL de tampão de eluição AVE. As amostras foram incubadas durante 1 minuto à temperatura ambiente e centrifugadas a 8.000 rpm para recuperação de RNA aderido a membrana de sílica-gel.

4.5.2 Síntese do DNA complementar (cDNA)

Para a obtenção do DNA complementar (cDNA), o RNA viral foi submetido à reação de transcrição reversa (RT) utilizando um iniciador randômico pd(N)6 (Invitrogen). A reação de RT foi realizada a partir de 9,5 µL de RNA adicionado a mistura de reagentes apresentada no Quadro 4, seguindo para o termociclador *GeneAmp PCR System 9700* (*Applied Biosystem*), onde foi submetida as etapas de transcrição reversa (RT) a 50°C por 50 minutos e denaturação a 85°C por 5 minutos.

4.5.3 Reação em Cadeia mediada pela Polimerase (PCR)

A amplificação da região VP1/2A do genoma do VHA foi realizada a partir da técnica de *nested* PCR*,* uma variação da PCR tradicional, em que há uma segunda etapa de amplificação utilizando um par de iniciadores internos aos que foram utilizados na primeira etapa (Quadro 3), visando aumentar a sensibilidade e especificidade da técnica. A primeira etapa de amplificação (1° *round*) foi realizada utilizando 5 µl do cDNA, adicionando-o a mistura de reação contendo 1 µL de cada oligonucleotídeo F6 (250 ng/ µL) e F7 (250 ng/ µL), 9,5 µL de água Ultra Pura, 4 µL de dNTP (1,25 mM), 2,5 µL do tampão 10X, 1,5 µL de MgCl2 (50mM) e 0,5 µL da Taq DNA polimerase (5U/µL), obtendo um volume total de 25 µL. A segunda reação de amplificação (2º *round*) que caracteriza a técnica do *nested* PCR, utilizou 1 µL do produto da primeira amplificação e os oligonucleotídeos internos F8 e F9, 13,5 µL de água Ultra Pura*,* e o mesmo volume e concentração dos demais reagentes da primeira amplificação, obtendo um volume total de 26 µL. O programa de amplificação da 1° e 2° etapa de amplificação consistiu de desnaturação prévia a 95°C por 5 minutos, seguidos por 35 ciclos de 95°C por 30 segundos, anelamento a 55°C por 30 segundos e extensão a 72°C por 30 segundos, subsequente extensão final de 72°C por 10 minutos e *hold* a 4°C no equipamento termociclador *GeneAmp PCR System 9700* (*Applied Biosystem*).

Os produtos das amplificações foram visualizados em transluminador UV após eletroforese em gel de agarose à 2%, em tampão TAE 1x (TAE 40x estoque – TrisBase 1,6 M, Acetato de Na 0,8 M e EDTA-Na2 40 mM/1000 mL água deionizada), corado com brometo de etídeo (0,5 µg/mL), para observação do fragmento de DNA com tamanho esperado de 244 pb.

Quadro 3 – Sequências dos iniciadores utilizados na *nested*- PCR

Iniciadores	Seqüência 5' – 3'
F6	CTATTCAGATTGCAAATTAYAAT
F7	AAYTTCATYATTTCATGCTCCT
F8	TATTTGTCTGTYACAGAACAATCAG
F9	AGGRGGTGGAAGYACTTCATTTGA

R= A ou G; Y= C ou T

4.6 SEQUENCIAMENTO

O sequenciamento das amostras positivas foi realizado a partir do produto do 2º round da PCR, purificado com o kit comercial Pure Link® PCR Purification Kit (Invitrogen) de acordo com as instruções do fabricante. Para reação utiliza-se o kit *BigDye Terminator Cycle Sequencing* ver. 3.1 (Applied Biosystems) e o equipamento 3130*xl Genetic Analyzer* (Applied Biosystems) seguindo as recomendações do fabricante. Resumidamente, 2 µL do material genético purificado, que consiste dos fragmentos de 244pb obtidos na reação de *nested*-PCR foram utilizados no preparo das reações de sequenciamento, que foi composta de 250 ng de cada um dos iniciadores (F8 e F9), em reações separadas, juntamente com o tampão da reação e o *BigDye*, totalizando um volume final de 20 µL. As reações foram dispostas no termociclador e submetidas a 25 ciclos onde as etapas de desnaturação ocorreram à 96°C, anelamento à 50°C e extensão à 60°C. Após a ciclagem da reação de sequenciamento o DNA foi precipitado (EDTA 125 mM; etanol) para retirada do excesso de reagentes que possam interferir na obtenção dos dados durante a eletroforese.

4.6.1 Análise de sequências e genotipagem

As sequências foram editadas e alinhadas no programa *Geneious* versão 7.1.8 e comparadas com sequências protótipos dos genótipos do VHA1, disponíveis no banco de dados da NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). A análise comparativa foi realizada com o BLAST (BLASTN), para confrontar a sequência de nucleotídeos a ser analisada contra as sequências disponíveis na base de dados do NCBI.

4.6.2 Análise filogenética

As sequências foram alinhadas com algoritmo do programa Mafft v 7.130 (KATOH; TOH, 2010). O alinhamento foi manualmente inspecionado no programa *Geneious* versão 7.1.8 e corrigidos regiões de inserção e deleção compartilhadas por mais de uma cepa. Para avaliar a distância genética e escolha do modelo de substituição nucleotídica utilizou-se o MrModeltest (NYLANDER, 2004) em conjunto com o programa PAUP v4.0 (SWOFFORD, 2003), com a finalidade de selecionar o melhor modelo evolutivo para o processo de geração da árvore filogenética, onde o método Bayesiano foi selecionado empregando a cadeia de Markov Monte Carlo (MCMC). Para inspecionar as análises e acessar os valores de credibilidade (probabilidade *a posteriori)*, utilizou-se o programa Tracer v 1.6 (RAMBAUT; DRUMMOND, 2014), onde foi avaliada a estabilidade dos modelos gerados pela MCMC. Em seguida, para obtenção dos valores estatísticos da análise bayesiana, utilizou-se o ponto de corte (*burnin*) de 25% (*sump burnin*=25 e *sumt burnin*=25). A visualização da árvore filogenética foi realizada no programa FigTree v1.4.2 (RAMBAUT, 2009).

4.7 QUANTIFICAÇÕES DOS INDICADORES MICROBIOLÓGICOS

Para a quantificação dos indicadores microbiológicos foi realizada a técnica do substrato cromogênico definido (ONPG-MUG) por meio do kit Colilert 18 da IDEXX©, seguindo recomendações do fabricante.

4.8 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS E VARIÁVEIS CLIMATÓLOGICAS

As variáveis pH, Sólidos Totais Dissolvidos (STD), e Oxigênio Dissolvido (OD) foram analisadas no momento da coleta por potenciometria em uma sonda multiparamétrica HI9828 da HANNA®, previamente calibrada. A Turbidez, Cor Aparente, Nitrato, Nitrito, Fósforo Total e Cloreto foram determinados por espectrofotometria no equipamento DR2800 da HACH®. Os métodos analíticos empregados para a determinação dos parâmetros físico-químicos obedeceram aos procedimentos e recomendações descritas no *Standard Methods for Examination of Water and Wastewater* (APHA/AWWA/WEF, 2005) e *Procedures Manual HACH-Spectrophotometer* DR-2800 (HACH, 2007).

Os dados sobre as variáveis climatológicas foram obtidos utilizando banco de dados do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).

4.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados gerados foram armazenados em planilhas no *Microsoft Office Excel/2007* e posteriormente submetidos à análise estatística nos programas *R* e *BioEstat* versão 5.2 (AYRES et al., 2007). Para avaliar a qualidade microbiológica e físico-química e a associação com a presença do VHA1 em n=108 amostra de água procedentes de 03 reservatórios foram aplicados métodos estatísticos descritivos e inferenciais. As variáveis quantitativas foram apresentadas por medidas de tendência central e de variação. As variáveis qualitativas foram apresentadas por distribuições de frequências absolutas e relativas. A comparação entre as variáveis qualitativas foi realizada pelo teste do Qui-quadrado, conforme recomenda Ayres et al. (2007). A comparação entre duas variáveis quantitativas foi realizada pelo teste U de Mann-Whitney. A avaliação conjunta entre as variáveis quantitativas considerando o local de coleta e a presença do VHA1 foi realizada pelo teste de Kruskal-Wallis com pós teste de Dunn (Tabela 12). A avaliação da correspondência linear entre variáveis quantitativas foi realizada pelo método de Pearson. As variáveis físico-químicas analisadas por cada período do ano foram avaliadas pelo teste de Kruskal-Wallis. As variáveis climatológicas a temperatura e a umidade foram avaliadas pelo teste t Student, por outro lado, as variáveis de Pressão, Radiação e Precipitação, por não apresentarem uma distribuição normal, foram avaliadas pelo teste de Mann-Whitney. A análise de Regressão Logística simples foi realizada para avaliar a relação entre os parâmetros físico-químicos e VHA1. Foi previamente fixado o nível de significância alfa = 0.05 para rejeição da hipótese de nulidade. O processamento estatístico foi realizado nos softwares GrafTable versão 2.0 e BioEstat versão 5.3.

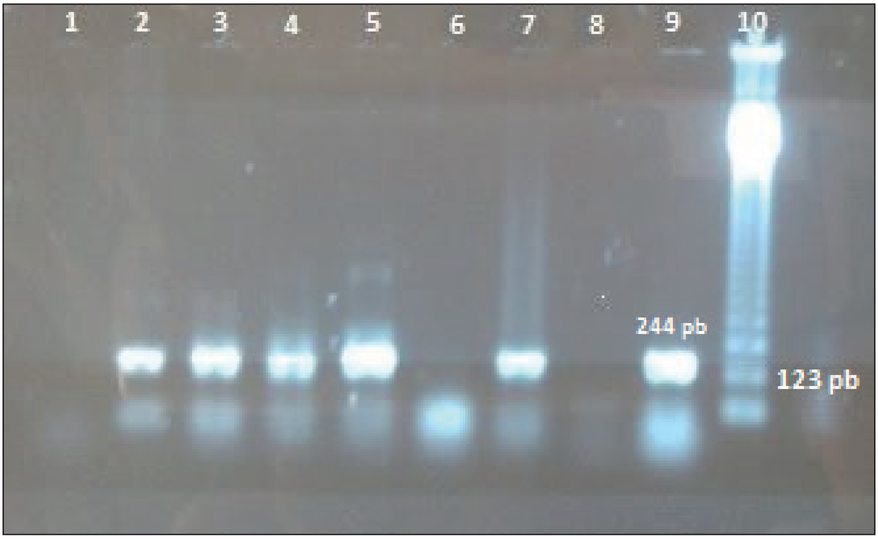
RESULTADOS

5.1 AVALIAÇÃO DA OCORRÊNCIA DO VHA1

Foram coletadas um total de 108 amostras de água para pesquisa do VHA1 ao longo deste trabalho, das quais 44,44% (48/108) foram positivas para VHA1. O Lago Água Preta foi o que maior apresentou amostras positivas 37,5% (18/48) seguido do Lago Bolonha 31,25% (15/48) e a saída da ETA 31,25% (15/48), todas as amostras foram detectadas por meio da técnica de *Nested* – PCR (Figura 8). Apesar do Lago Água Preta ter apresentado maior número de amostras positivas, este não mostrou diferença significativa com p-valor=0.7136 quando comparado com os demais pontos de amostragens (Tabela 7).

Levando em consideração as amostras que foram positivas em cada período do ano (2012, 2013 e 2014), observou-se que os lagos Bolonha (*p*-valor=0.1306) e Água Preta (*p*-valor=0.4519) não apresentaram diferença significativa, como pode ser visualizado na tabela 8. O mesmo não aconteceu em relação a ETA, em que a diferença foi altamente significativa com *p*-valor=0.0001, apontando para o pico de contaminação o ano 2013 (83,3%) como pode ser observado no gráfico 2.

Figura 8 – Eletroforese em gel de agarose 2% do produto de *nested* PCR (2º round)



Linhas 1 e 10: linha 1 controles negativo, linha 2 e 3 (PT01), linha 4 a 6 (PT02), linha 7 e 8 (PT03), linha 9 e 10 controle positivo e marcador de peso molecular 123 pares de bases, respectivamente.

Tabela 7 – Avaliação da presença do VHA1 nas amostras coletadas no manancial do Utinga e na ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

	V H A1		
	Lago Bolonha	**Lago Água Preta**	**ETA**
N amostras	36	36	36
Positivos	15	18	15
Positivos (%)	41.7	50.0	41.7
IC 95%	18,6 a 52,3	33,7 a 66,3	18,6 a 52,3

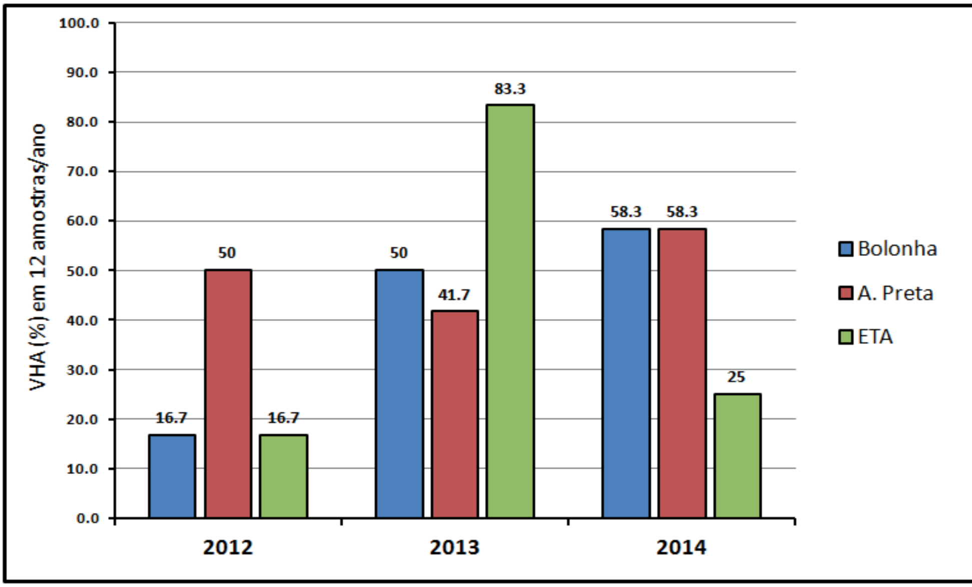
Teste Qui-quadrado (p-valor =0.7136)

Tabela 8 – Presença do VHA1 no manancial do Utinga e na ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

		Lago Bolonha	**Lago Água Preta**	**ETA**
Ano 2012	**n amostras**	**12**	**12**	**12**
	HAV+	2	6	2
	Positivos %	16.7	50.0	16.7
	Negativos %	83.3	50.0	83.3
Ano 2013	**n amostras**	**12**	**12**	**12**
	HAV+	6	5	10
	Positivos %	50.0	41.7	83.3
	Negativos %	50.0	58.3	16.7
Ano 2014	**n amostras**	**12**	**12**	**12**
	HAV+	7	7	3
	Positivos %	58.3	58.3	25.0
	Negativos %	41.7	41.7	75.0
p-valor (anual)		0.0907(ns)	0.7165(ns)	0.0015*

*Qui-quadrado (*p*-valor=0.0001)

Gráfico 2 – Presença do VHA1 no manancial do Utinga e na ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



Fonte: Próprio autor

5.2 AVALIAÇÕES DOS INDICADORES MICROBIOLÓGICOS DA QUALIDADE DA ÁGUA

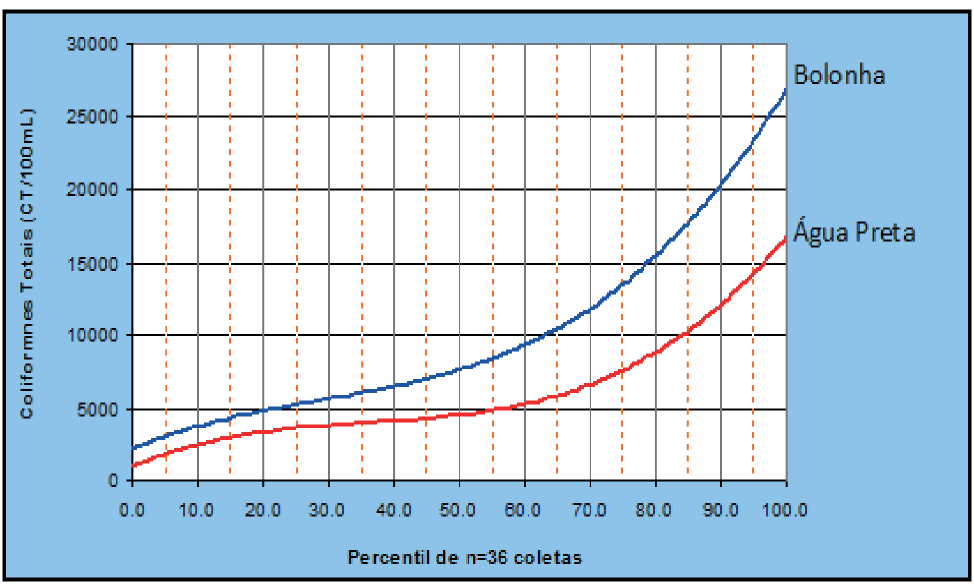
A tabela 9 compara a densidade de bactérias do grupo coliformes (totais, termotolerantes e *E. coli*) entre os lagos Bolonha e Água Preta, mostrando diferença altamente significativa entre eles, destacando para maiores níveis de contaminação o Lago Bolonha (Gráficos 3, 4 e 5).Considerando a resolução da CONAMA 357/2005 que recomenda o limite de 1.000 coliformes termotolerantes em 100 mL de água para avaliação dos corpos de água classificados como de classe 2. Desta forma no gráfico 4 observa-se que o limite foi ultrapassado em mais de 50% das amostras no Lago Bolonha e 30% no Lago Água Preta.

Tabela 9 – Densidade de bactérias do grupo coliformes nas amostras coletadas no manancial do Utinga no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

	C. totais		***E. coli***		**C. termot**	
	Bolonha	**A.Preta**	**Bolonha**	**A.Preta**	**Bolonha**	**A.Preta**
Tamanho da amostra=	36	36	36	36	36	36
Mínimo	2909.0	1455.0	98.0	10.0	131.0	10.0
Máximo	24196.0	19863.0	4106.0	3448.0	11199.0	11199.0
Mediana	8414.0	4884.0	525.0	151.5	836.0	369.0
Percentil 25	4980.0	3210.3	211.8	82.0	464.0	142.5
Percentil 75	12274.0	7270.0	1027.0	280.5	2360.3	756.0
Média Aritmética	10049.2	6033.0	839.4	375.5	2024.3	1170.5
Desvio Padrão	6787.5	4021.9	893.9	651.8	2742.3	2508.6
p-valor		0.0033*		0.0001*		0.0025*

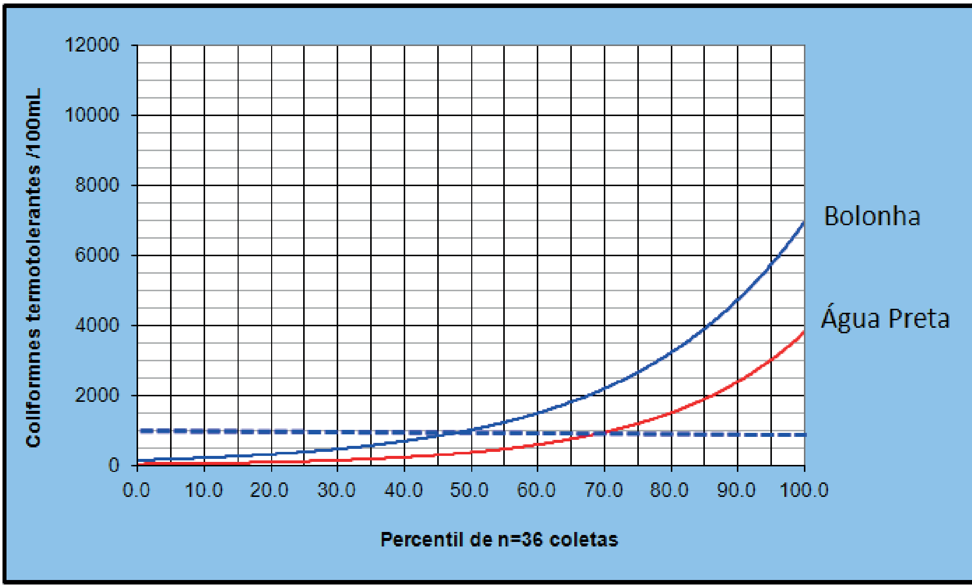
Teste de Mann-Whitney

Gráfico 3 – Distribuição da Densidade de Coliformes totais nas amostras coletadas no manancial do Utinga no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



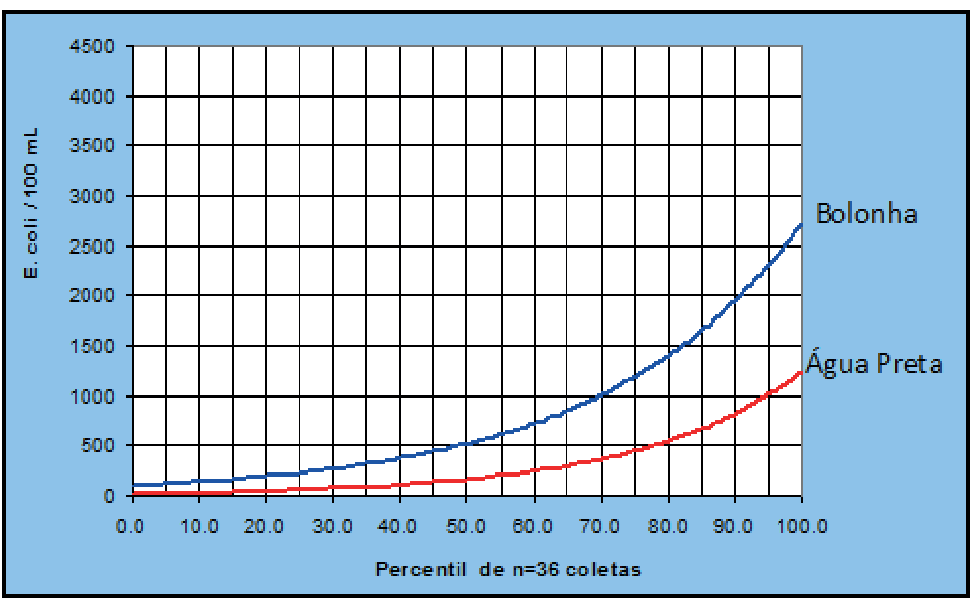
Fonte: Próprio autor

Gráfico 4 – Distribuição da Densidade de Coliformes termotolerantes nas amostras coletadas no manancial do Utinga no período de Janeiro de 2012 a dezembro de 2014



Fonte: Próprio autor

Gráfico 5 – Distribuição da Densidade de *E Coli* nas amostras coletadas no manancial do Utinga no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



Fonte: Próprio autor

5.2.1 Análise descritiva entre os indicadores da qualidade da água e a presença do VHA1

As tabelas 10 e 11 apresentam as análises estatísticas entre os resultados bacteriológicos e as amostras que foram positivas e negativas para VHA1 nos lagos Bolonha e Água Preta. Sendo possível observar que não existe diferença significativa quando os indicadores da qualidade da água foram comparados com a presença e ausência do vírus. Indicando que não há uma relação entre a concentração de bactérias e a presença do VHA1. Nos gráficos 6, 7 e 8 podem ser visualizados o desvio padrão e a média entre as duas amostras de água superficiais.

Na saída da ETA nenhuma das amostras apresentou resultados positivos para os indicadores da qualidade microbiológica da água, estando em conformidade com a portaria 2914/2011 do MS. Entretanto, foi detectada a presença de partículas virais em 41,66% (15/36) na saída da ETA, demonstrando a presença do vírus mesmo na ausência desses indicadores bacteriológicos.

Tabela 10 – Contagens de bactérias conforme a presença do VHA1 no lago Bolonha no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

	C. totais		***E.coli***		**C. termotolerantes**	
	VHA 1+	Negativo	**VH1+**	Negativo	**VHA 1+**	Negativo
n da amostra	15	21	15	21	15	21
Mínimo	2909.0	3076.0	112.0	98.0	226.0	131.0
Máximo	24196.0	24196.0	2481.0	4106.0	3441.0	11199.0
Mediana	8164.0	8664.0	465.0	565.0	1076.0	657.0
Percentil 25	5962.5	4884.0	212.5	216.0	618.0	395.0
Percentil 75	10133.0	15531.0	723.5	1223.0	1744.0	2909.0
Média Aritmética	8577.1	11100.9	652.9	972.6	1308.2	2535.7
Desvio Padrão	5226.8	7662.6	637.8	1033.9	1000.1	3435.3
p-valor		**0.5004**		**0.4132**		**0.8098**

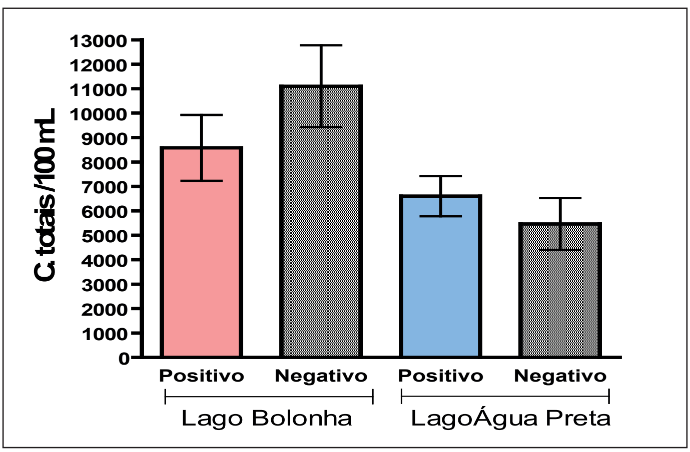
Teste de Mann-Whitney

Tabela 11 – Contagens de bactérias conforme a presença do VHA1 no lago Água Preta no período de janeiro de 2012 a dezembro 2014

	C. totais		***E.coli***		**C. termot.**	
	VHA 1+	Negativo	**VHA1+**	Negativo	**VHA 1+**	Negativo
n da amostra =	18	18	18	18	18	18
Mínimo	2595.0	1455.0	10.0	10.0	52.0	10.0
Máximo	14136.0	19863.0	1396.0	3448.0	11199.0	10462.0
Mediana	**5028.0**	**4229.0**	**187.0**	**115.0**	**491.0**	**283.0**
Percentil 25	3828.5	2594.0	85.3	85.0	209.0	100.3
Percentil 75	8315.5	6131.0	255.8	291.0	874.0	650.8
Média Aritmética	6599.6	5466.4	282.6	468.4	1298.8	1042.2
Desvio Padrão	3501.7	4512.3	350.4	856.6	2632.2	2448.1
p-valor		**0.1137**		**0.6693**		**0.1946**

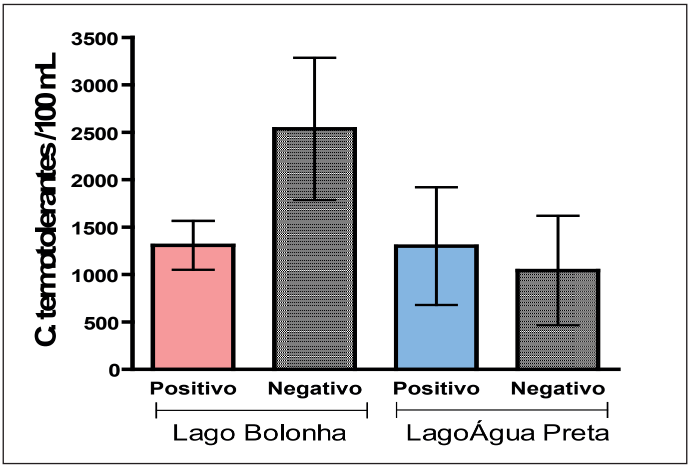
Teste de Mann-Whitney

Gráfico 6 – Média e desvio padrão da contagem de C. totais conforme a presença do VHA1 no Lago Bolonha no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



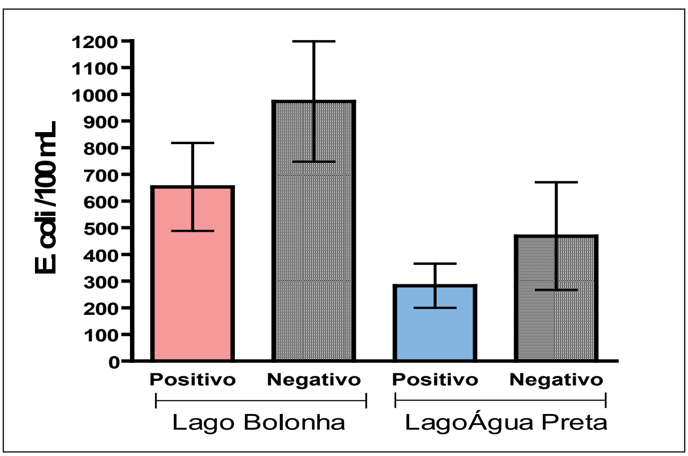
Fonte: Próprio autor

Gráfico 7 – Média e desvio padrão da contagem de C. termotolerantes conforme a presença do VHA1 no Lago Bolonha no período de janeiro de 2012 a julho de 2014



Fonte: Próprio autor

Gráfico 8 – Média e desvio padrão da contagem de *E. coli* conforme a presença do VHA1 no Lago Bolonha no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



Fonte: Próprio autor

5.3 AVALIAÇÃO DAS VARIÁVEIS FÍSICO-QUÍMICAS DE ACORDO COM OS PONTOS DE AMOSTRAGENS

A tabela 12 apresenta os indicadores físico-químicos da qualidade da água, analisados das amostras coletadas nos lagos Bolonha e Água Preta e na saída da ETA no período de estudo, sendo descritos os valores da mediana, média e desvio padrão. Pode-se ainda observar que alguns parâmetros físico-químicos apresentaram diferenças significativas quando os três pontos de coletas foram comparados e que a ETA foi aquela que mais se diferenciou dos demais pontos, uma vez que se trata de uma água que já passou pelo devido tratamento. A variável temperatura, cloreto, nitrito e fosfato não mostraram resultados significativos entre os pontos de coleta. No entanto o Lago Bolonha apresentou diferença em relação à condutividade e o TDS, assim como o cloreto apresentou significância no Lago Água Preta.

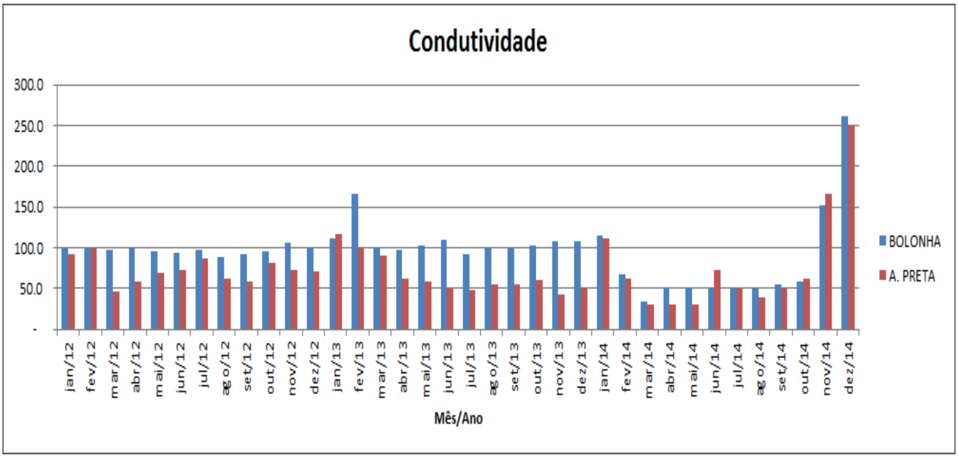
Tabela 12 – Descrição das variáveis físico-químicas procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

	L. Bolonha			L. Água Preta			ETA			
	MD	**Média**	**D.P**	**MD**	**Média**	**D.P**	**MD**	**Média**	**D.P**	**p-valor**
Ph	6.14	6.29	0.46	6.39	6.61	0.79	**6.83***	6.75	0.53	0.0004*
Temperatura	29.50	29.45	0.59	29.40	29.32	0.68	29.30	29.17	0.68	0.1259
Condutividade	**98.20***	97.36	38.80	62.30	74.06	40.44	52.70	61.80	39.43	<0.0001*
TDS	**55.59***	56.40	23.02	33.35	40.75	24.78	30.10	34.57	24.55	<0.0001*
Salinidade	0.02	0.03	0.02	0.02	0.03	0.02	**0.01***	0.02	0.02	<0.0001*
OD	5.05	4.87	1.56	5.22	5.01	1.55	**3.03***	3.21	0.73	<0.0001*
Turbidez	29.80	32.16	12.61	32.25	36.47	15.65	**1.00***	1.69	2.28	<0.0001*
STS	8.00	10.88	14.68	8.00	12.32	19.46	**1.00***	1.37	1.92	<0.0001*
Cor aparente	112.00	116.50	23.88	92.00	102.88	48.83	**1.00***	1.47	2.01	<0.0001*
Cloreto	18.77	21.10	10.78	**22.90***	22.93	9.91	15.44	16.40	9.72	0.0258*
Nitrito-N	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.03	0.13	0.4350
Nitrato-N	0.54	0.55	0.28	0.42	0.46	0.25	0.78*	1.05	1.11	0.0110*
Fosfato-P	0.05	0.09	0.10	0.09	0.12	0.12	0.09	0.25	0.42	0.5849

Teste de Kruskal-Wallis, com pós-teste de Dunn. (MD) Mediana (DP) Desvio Padrão

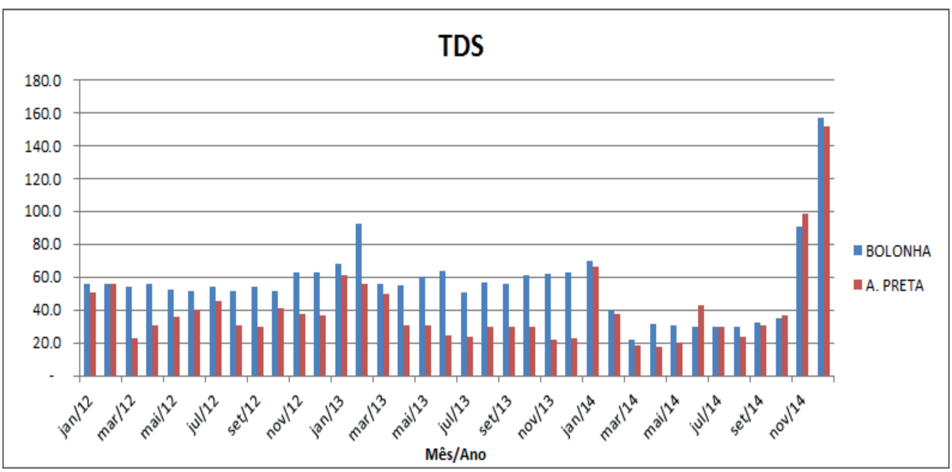
Quando os dados foram analisados por ano, foi possível observar que ocorreram diferenças significativas nas variáveis físico-químicas ilustrados nos gráficos 9 a 14. A condutividade, TDS, Nitrato e Nitrito apresentaram maiores concentrações em 2013 no Lago Bolonha. Já o STS e cor aparente se destacaram por apresentarem concentrações mais elevadas em 2014 no Lago Água Preta. Na ETA, as variáveis pH, TDS, STS, Salinidade e Turbidez foram as que mostraram variações significativas durante o período de estudo, como mostram os gráficos 15 a 19, onde a maioria das variáveis apresentaram níveis mais elevados em 2014.

Gráfico 09 – Variação da condutividade nos lagos Bolonha e Água Preta no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



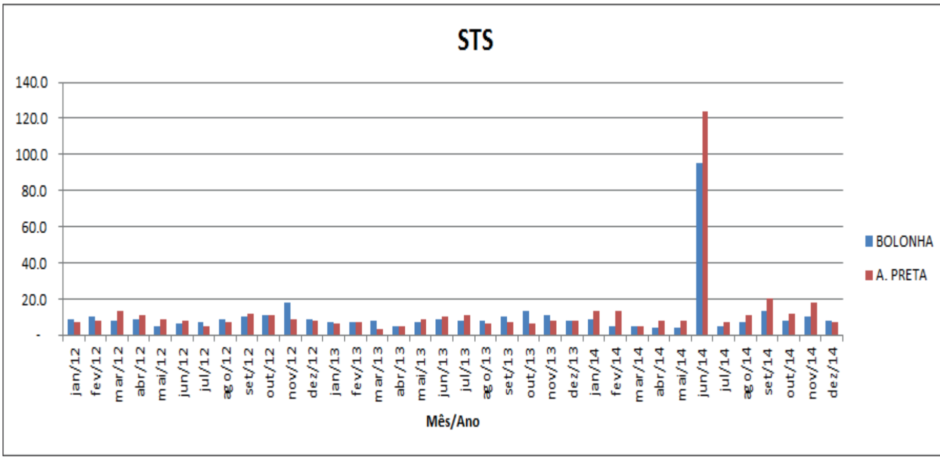
p-valor 0,009

Gráfico 10 – Variação do TDS nos lagos Bolonha e Água Preta no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



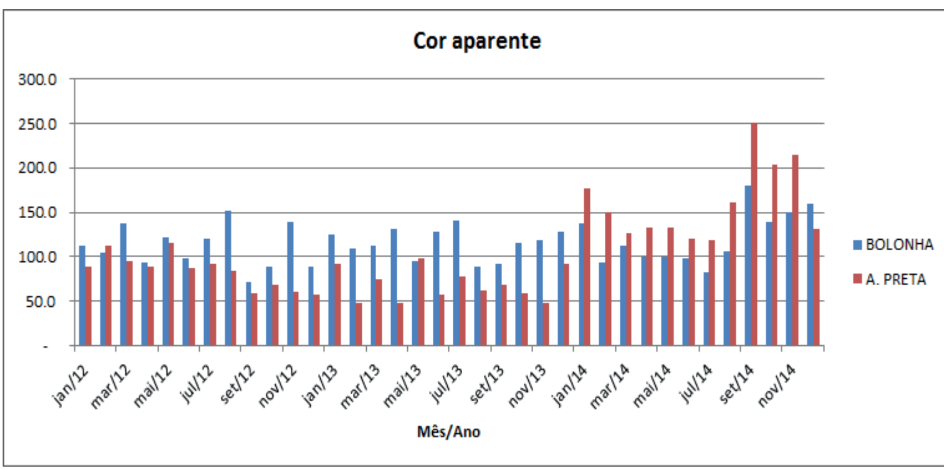
p-valor 0,0137

Gráfico 11 – Variação do STS nos lagos Bolonha e Água Preta no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



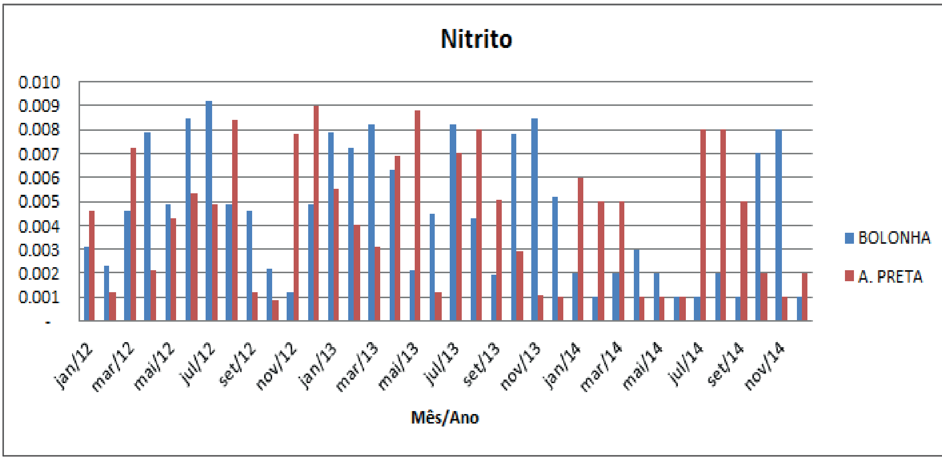
p-valor 0,0310

Gráfico 12 – Variação da Cor aparente nos lagos Bolonha e Água Preta no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



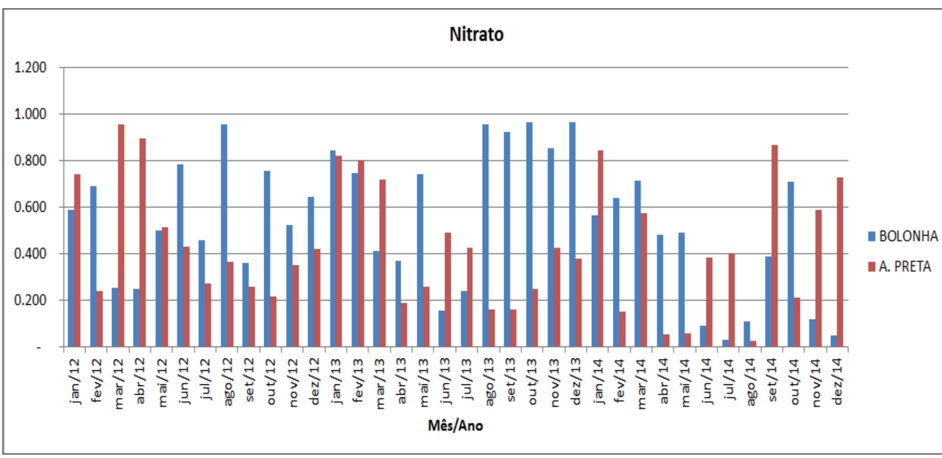
p-valor < 0,0001

Gráfico 13 – Variação do Nitrito nos lagos Bolonha e Água Preta no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



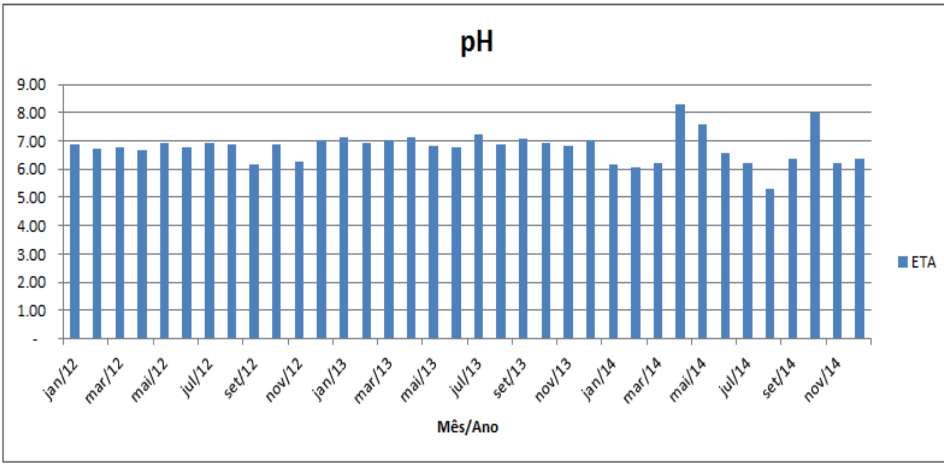
p-valor 0,0064

Gráfico 14 – Variação do Nitrito nos lagos Bolonha e Água Preta no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



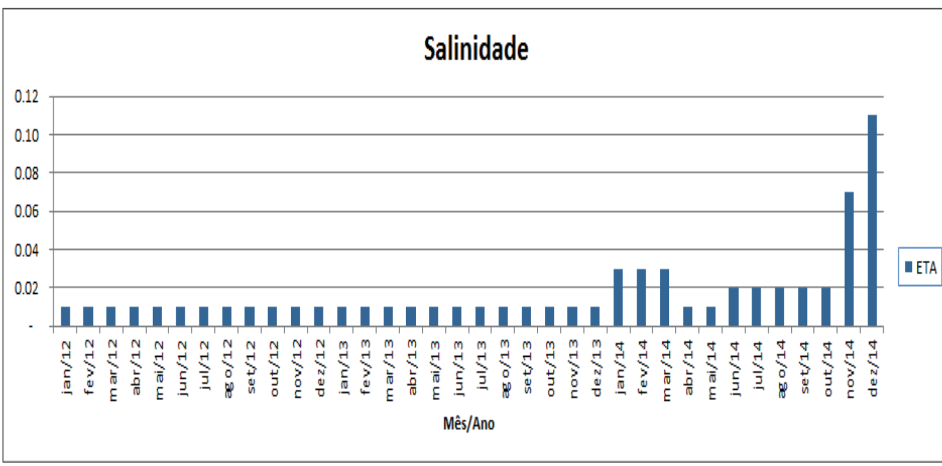
p-valor 0,0234

Gráfico 15 – Variação do pH na ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



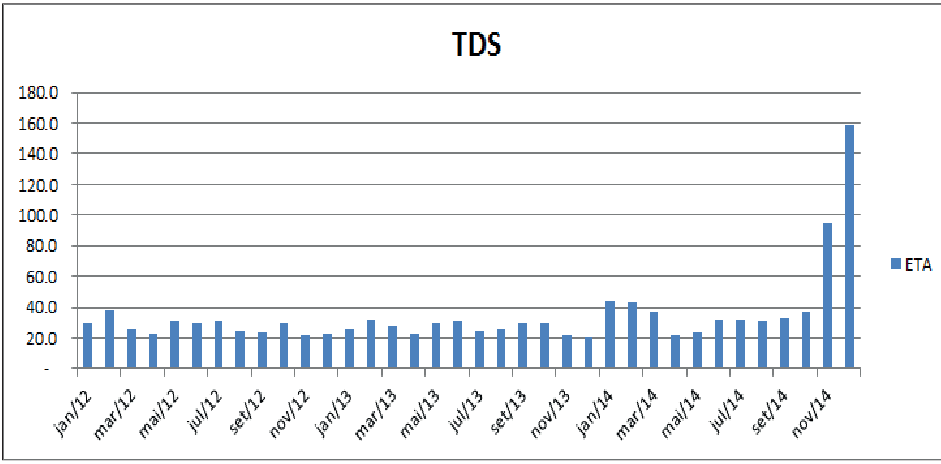
p-valor 0,0135

Gráfico 16 – Variação da salinidade na ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



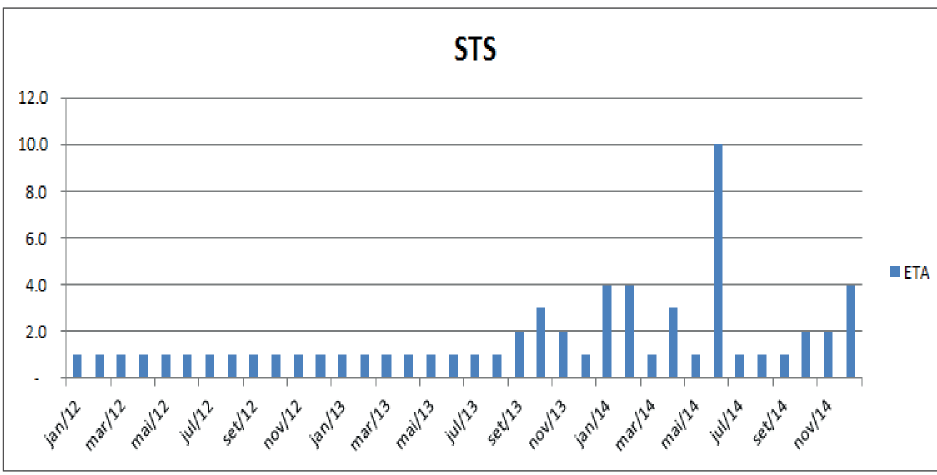
p-valor < 0,0001

Gráfico 17 – Variação do TDS na ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



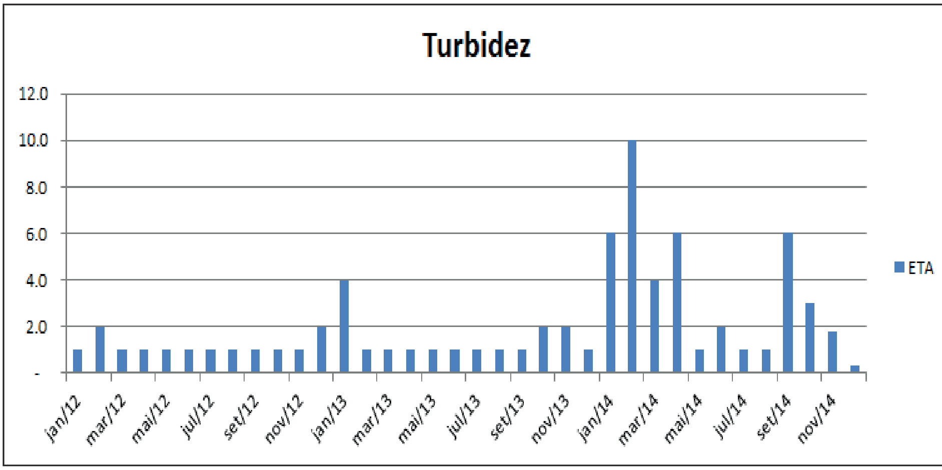
p-valor 0,0046

Gráfico 18 – Variação do STS na ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



p-valor 0,0012

Gráfico 19 – Variação do pH na ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



p-valor 0,0090

5.3.1 Análise dos resultados das variáveis físico-químicas em relação ao período estudado e os diferentes pontos de amostragem

Nas tabelas de 12 a 25 observa-se a distribuição das variáveis físico-químicas durante o período de estudo, quanto à presença e ausência do VHA1**.** O teste de Man-Whitney foi aplicado para comparar cada variável físico-química entre os pontos de amostragem e observou-se que não há diferença significativa entre eles. Com exceção do pH que apresentou maiores concentrações na saída da ETA ($p<0,05$). Quando foi aplicado o teste de Kruskal-Wallis observaram-se diferenças significativas entre alguns pontos de amostragens, apontando para concentrações mais elevadas na ETA quando o pH (gráfico 20) e nitrato (gráfico 31) foram analisados. A condutividade (gráfico 22) e TDS (gráfico 23) apresentaram níveis mais elevados no Lago Bolonha. A salinidade (gráfico 24), OD (gráfico 25), turbidez (gráfico 26), STS (gráfico 27) e cor aparente (gráfico 28) apresentaram diferenças entre o lagos e a ETA, sendo a ETA aquela com concentrações mais baixas.

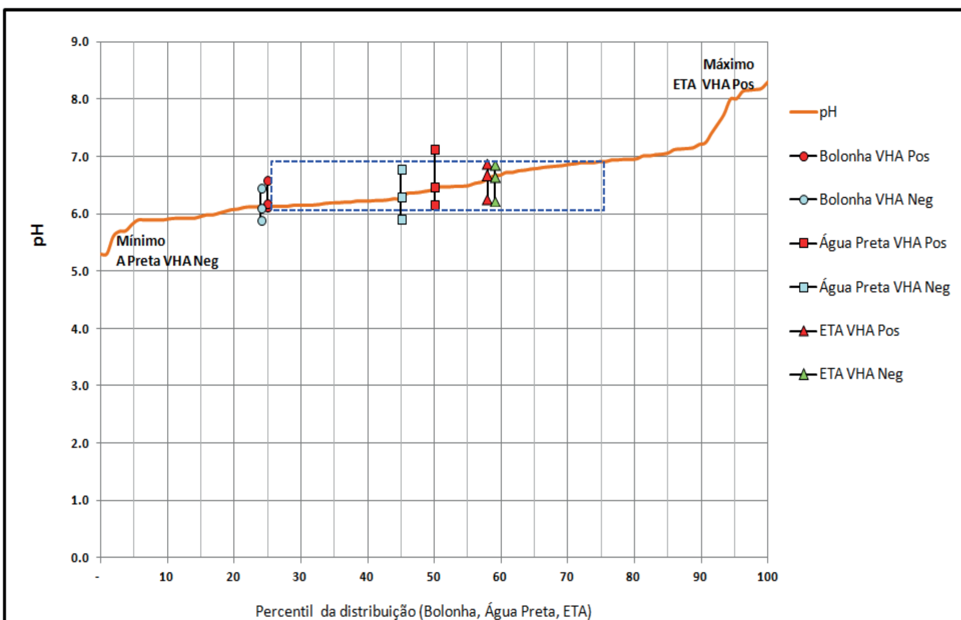
A temperatura (Gráfico 21), o cloreto (Gráfico 29), o nitrito (Gráfico 30) e o fosfato (Gráfico 32), não apresentaram resultados significativos em ambos os testes

Tabela 13 – Distribuição do pH nas amostras procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

	Bolonha		Água Preta		ETA	
pH	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**
n amostral	15	21	18	18	15	21
Mínimo	5.60	5.70	5.69	5.30	6.20	5.29
Máximo	7.14	7.57	8.16	8.19	8.30	7.01
Amplitude	1.54	1.87	2.47	2.89	2.10	1.72
Mediana	6.15	6.13	6.47	6.32	7.01	6.66
Percentil 25	6.11	5.91	6.17	5.93	6.85	6.24
Percentil 75	6.57	6.47	7.14	6.79	7.14	6.86
Média Aritmética	6.32	6.27	6.71	6.50	7.08	6.52
Desvio Padrão	0.42	0.49	0.77	0.81	0.50	0.42
Coef. Variação	6.7%	7.7%	11.5%	12.4%	7.1%	6.4%
p-valor		0.3951		0.3930		0.0004*

Teste de Mann-Whitney

Gráfico 20 – Distribuição do pH nas amostras procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



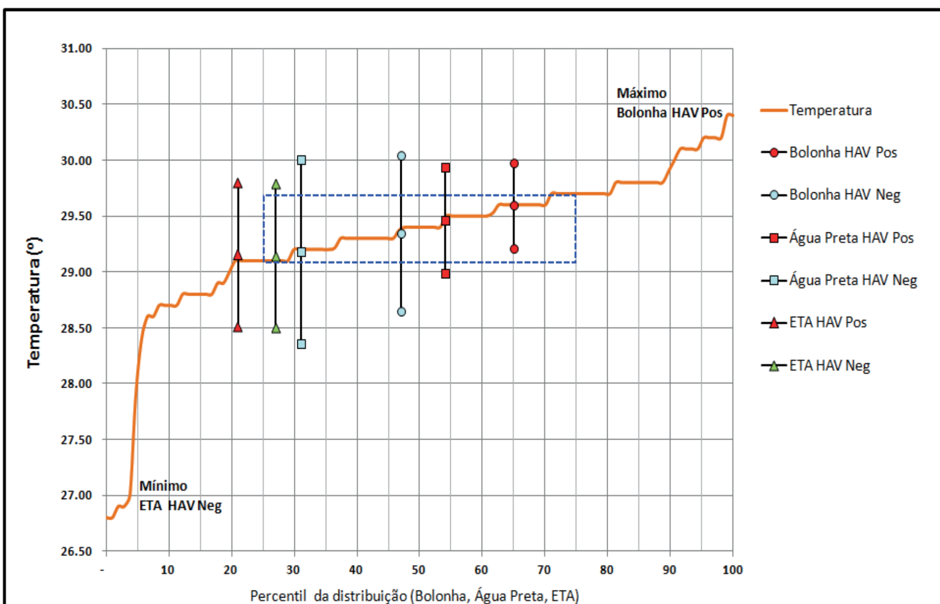
p-valor <0.0004*, Kruskal-Wallis

Tabela 14 – Distribuição da Temperatura da água nas amostras procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

	Bolonha		Água Preta		ETA	
Temperatura	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**
n amostral	15	21	18	18	15	21
Mínimo	29.00	26.80	28.60	26.90	27.00	26.80
Máximo	30.40	30.20	30.20	30.40	29.80	29.80
Amplitude	1.40	3.40	1.60	3.50	2.80	3.00
Mediana	29.60	29.40	29.55	29.39	29.40	29.22
Percentil 25	29.30	29.10	29.13	28.75	28.80	29.10
Percentil 75	29.80	29.70	29.78	29.58	29.65	29.50
Média Aritmética	29.60	29.35	29.47	29.18	29.17	29.15
Desvio Padrão	0.38	0.70	0.47	0.82	0.73	0.64
Coef. Variação	1.3%	2.4%	1.6%	2.8%	2.5%	2.2%
p-valor		0.2683		0.2965		0.6077

Teste de Mann-Whitney

Gráfico 21 – Distribuição da Temperatura da água nas amostras procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



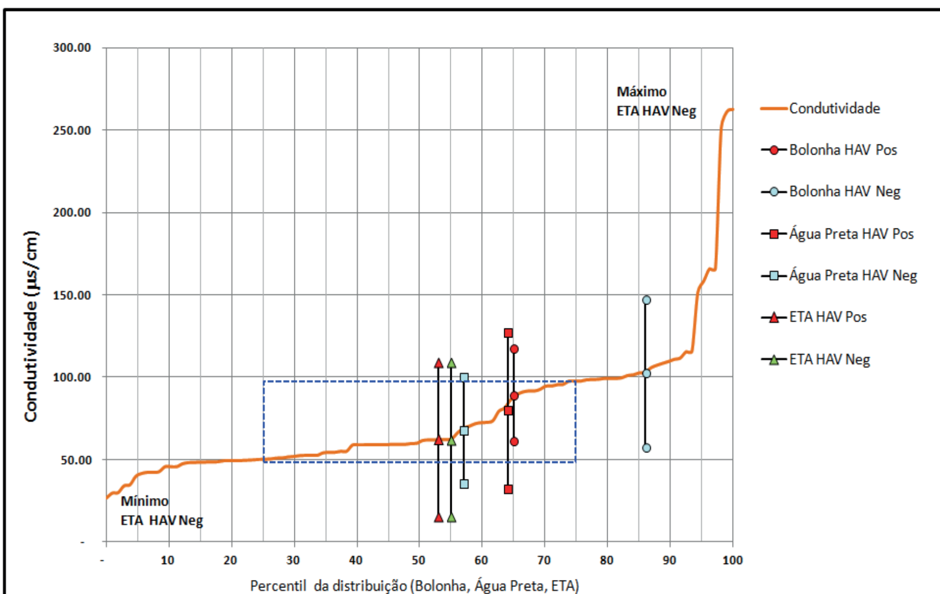
p-valor =0.3263 Kruskal-Wallis

Tabela 15 – Distribuição da condutividade da água nas amostras procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

	Bolonha		Água Preta		ETA	
Condutividade	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**
n amostral	15	21	18	18	15	21
Mínimo	50.40	34.30	29.90	30.20	34.90	28.90
Máximo	151.60	261.30	251.40	166.00	158.40	262.60
Amplitude	101.20	227.00	221.50	135.80	123.50	233.70
Mediana	95.60	98.70	70.65	59.75	52.60	52.10
Percentil 25	62.80	94.80	59.16	48.93	48.03	48.70
Percentil 75	105.75	102.80	89.93	77.24	59.30	59.20
Média Aritmética	89.57	102.93	80.15	67.97	58.59	62.06
Desvio Padrão	28.22	44.72	47.33	32.38	28.62	46.78
Coef. Variação	31.5%	43.4%	59.1%	47.6%	48.8%	75.4%
p-valor		0.4743		0.2001		0.8090

Teste de Mann-Whitney

Gráfico 22 – Distribuição da condutividade nas amostras procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



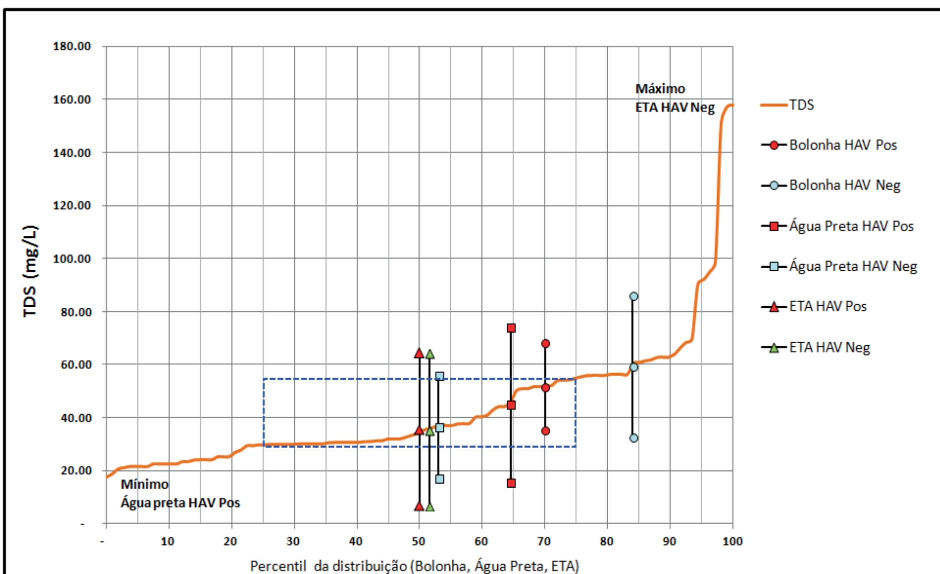
p-valor <0.0001*, Kruskal-Wallis

Tabela 16 – Distribuição da TDS nas amostras de água procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

	Bolonha		Água Preta		ETA	
TDS	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**
n amostral	15	21	18	18	15	21
Mínimo	29.90	21.50	17.50	18.80	20.60	21.10
Máximo	90.30	157.30	151.40	98.80	94.90	158.00
Amplitude	60.40	135.80	133.90	80.00	74.30	136.90
Mediana	52.10	55.90	37.75	30.10	30.10	29.70
Percentil 25	37.70	53.90	30.60	24.03	24.65	24.10
Percentil 75	61.15	62.70	49.03	39.93	30.60	33.20
Média Aritmética	51.98	59.56	44.84	36.65	32.15	35.60
Desvio Padrão	16.47	26.69	29.19	19.39	17.92	28.67
Coef. Variação	31.7%	44.8%	65.1%	52.9%	55.7%	80.5%
p-valor		0.3357		0.1329		0.5315

Teste de Mann-Whitney

Gráfico 23 – Distribuição da TDS nas amostras de água procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de2014



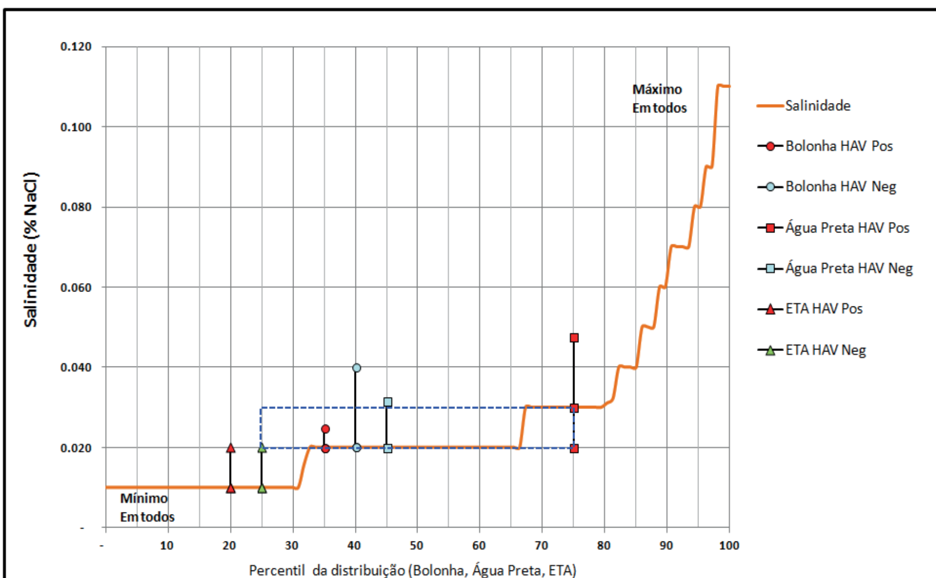
p-valor <0.0001*, Kruskal-Wallis

Tabela 17 – Distribuição da Salinidade (% NaCl) nas amostras procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

	Bolonha		Água Preta		ETA	
Salinidade	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**
n amostral	15	21	18	18	15	21
Mínimo	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Máximo	0.06	0.11	0.11	0.09	0.07	0.11
Amplitude	0.05	0.10	0.10	0.08	0.06	0.10
Mediana	0.02	0.02	0.03	0.02	0.01	0.01
Percentil 25	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01
Percentil 75	0.03	0.04	0.05	0.03	0.01	0.02
Média Aritmética	0.02	0.04	0.04	0.03	0.01	0.02
Desvio Padrão	0.01	0.03	0.03	0.02	0.02	0.02
Coef. Variação	54.0%	73.8%	71.8%	74.9%	105.8%	109.5%
p-valor (em cada ambiente)		0.0806		0.3484		0.1488

Teste de Mann-Whitney

Gráfico 24 – Distribuição da Salinidade (% NaCl) nas amostras procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



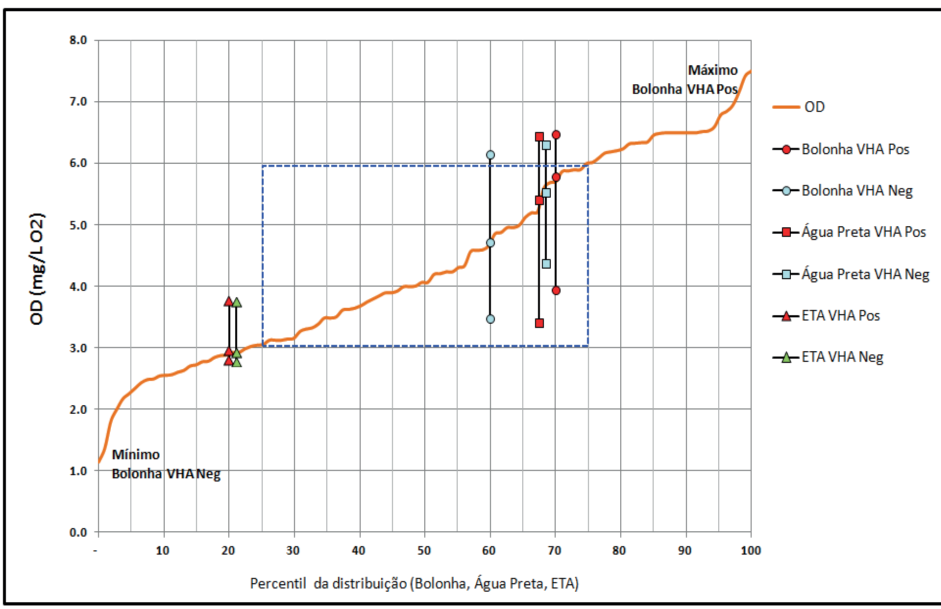
p-valor <0.0001*, Kruskal-Wallis

Tabela 18 – Distribuição de OD nas amostras de água procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

	Bolonha		Água Preta		ETA	
OD	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**
n amostral	15	21	18	18	15	21
Mínimo	1.80	1.14	1.36	2.00	2.17	2.34
Máximo	6.78	7.15	7.41	7.49	5.68	4.06
Amplitude	4.98	6.01	6.05	5.49	3.51	1.72
Mediana	5.36	4.73	5.42	5.54	3.05	2.95
Percentil 25	4.07	3.49	3.42	4.39	2.74	2.80
Percentil 75	6.45	6.16	6.45	6.31	3.37	3.76
Média Aritmética	5.13	4.65	4.92	5.22	3.24	3.21
Desvio Padrão	1.46	1.68	1.78	1.44	0.86	0.60
Coef. Variação	28.5%	36.2%	36.2%	27.5%	26.6%	18.6%
p-valor		0.3038		0.6952		0.8002

Teste de Mann-Whitney

Gráfico 25 – Distribuição da OD (mg/L O_2)nas amostras de procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



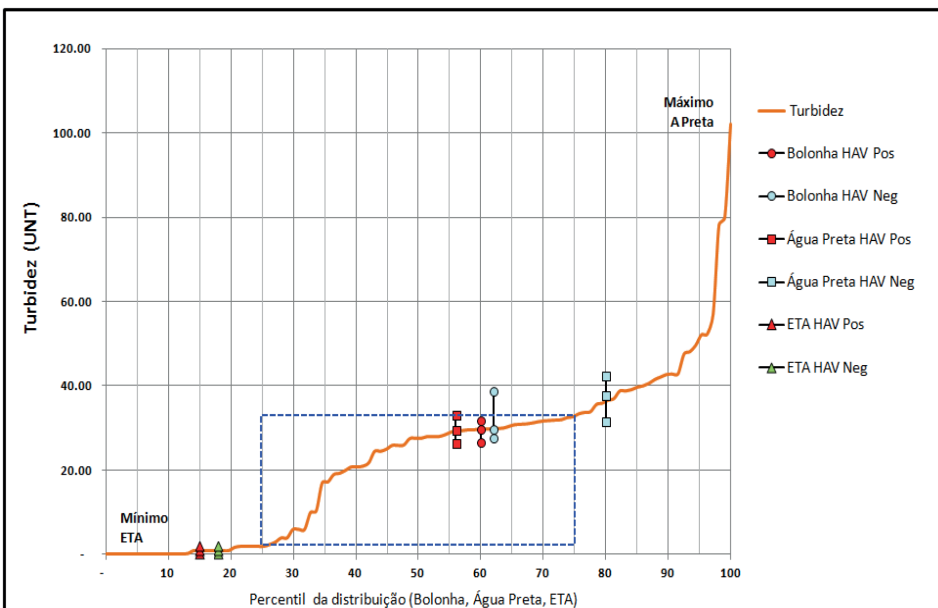
p-valor <0.0001*, Kruskal-Wallis

Tabela 19 – Distribuição da Turbidez (UNT) nas amostras de água procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

	Bolonha		Água Preta		ETA	
Turbidez	HAV Pos	Neg	HAV Pos	Neg	HAV Pos	Neg
n amostral	15	21	18	18	15	21
Mínimo	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Máximo	0.06	0.11	0.11	0.09	0.07	0.11
Amplitude	0.05	0.10	0.10	0.08	0.06	0.10
Mediana	0.02	0.02	0.03	0.02	0.01	0.01
Percentil 25	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01
Percentil 75	0.03	0.04	0.05	0.03	0.01	0.02
Média Aritmética	0.02	0.04	0.04	0.03	0.01	0.02
Desvio Padrão	0.01	0.03	0.03	0.02	0.02	0.02
Coef. Variação	54.0%	73.8%	71.8%	74.9%	105.8%	109.5%
p-valor (em cada ambiente)		0.1088		0.1215		0.3235

Teste de Mann-Whitney

Gráfico 26 – Distribuição da turbidez (UNT) nas amostras de água procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



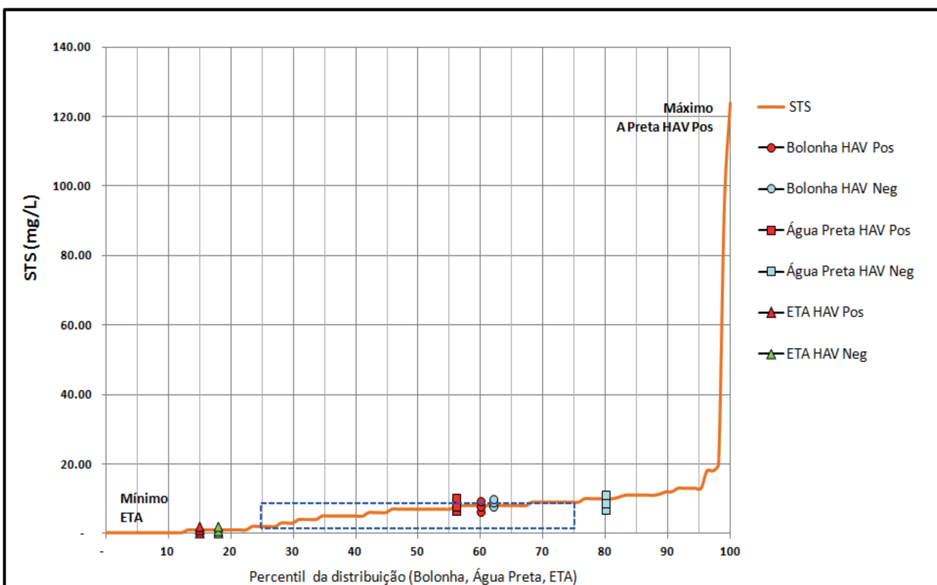
p-valor <0.0001*, Kruskal-Wallis

Tabela 20 – Distribuição da STS (mg/L) nas amostras de água procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

	Bolonha		Água Preta		ETA	
STS (mg/L)	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**
n amostral	15	21	18	18	15	21
Mínimo	4.00	5.00	3.00	5.00	0.20	0.20
Máximo	13.00	95.00	124.00	18.00	3.00	10.00
Amplitude	9.00	90.00	121.00	13.00	2.80	9.80
Mediana	8.00	9.00	8.00	9.00	1.00	1.00
Percentil 25	6.50	8.00	7.00	7.00	0.20	0.20
Percentil 75	9.52	10.00	10.50	11.29	1.50	2.00
Média Aritmética	7.90	13.00	15.17	9.47	1.01	1.74
Desvio Padrão	2.48	19.01	27.42	3.29	0.88	2.32
Coef. Variação	31.4%	146.2%	180.8%	34.7%	86.8%	133.0%
p-valor		0.2351		0.7278		0.5854

Teste de Mann-Whitney

Gráfico 27 – Distribuição da STS (mg/L) nas amostras de água procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



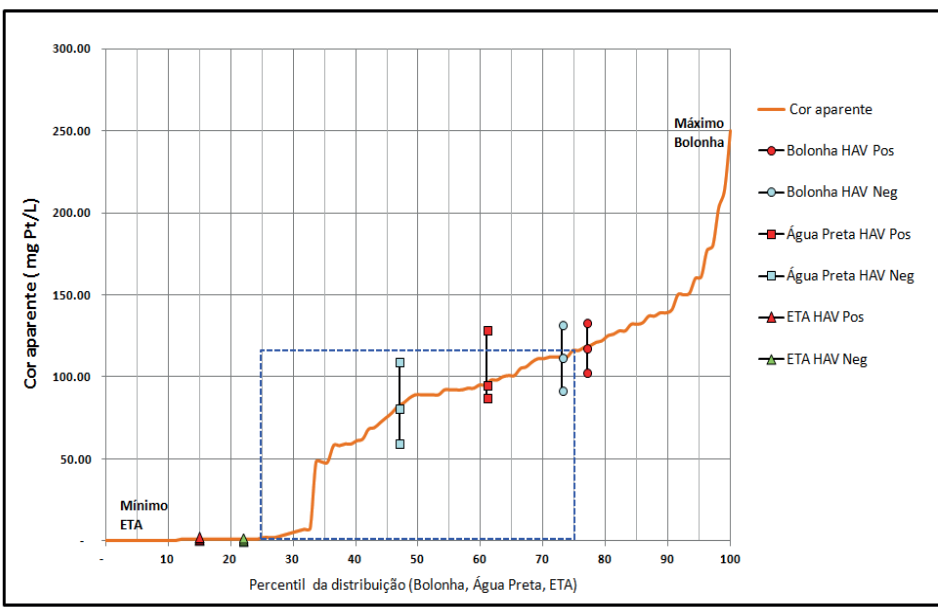
p-valor <0.0001*, Kruskal-Wallis

Tabela 21 – Distribuição da cor aparente (mg Pt/L) nas amostras de água procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

	Bolonha		Água Preta		ETA	
Cor aparente(mg Pt/L)	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**
n amostral	15	21	18	18	15	21
Mínimo	93.00	72.00	48.00	48.00	0.20	0.20
Máximo	180.00	160.00	250.00	214.00	7.00	7.67
Amplitude	87.00	88.00	202.00	166.00	6.80	7.47
Mediana	118.00	112.00	95.00	81.00	1.00	1.00
Percentil 25	103.00	92.00	87.50	59.75	0.20	0.20
Percentil 75	133.50	132.00	128.75	109.19	1.00	2.00
Média Aritmética	121.20	113.14	108.71	97.04	1.35	1.67
Desvio Padrão	23.84	23.91	48.74	49.61	1.96	2.01
Coef. Variação	19.7%	21.1%	44.8%	51.1%	145.9%	120.1%
p-valor		0.3231		0.2750		0.4412

Teste de Mann-Whitney

Gráfico 28 – Distribuição da cor aparente (mg Pt/L) nas amostras de água procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



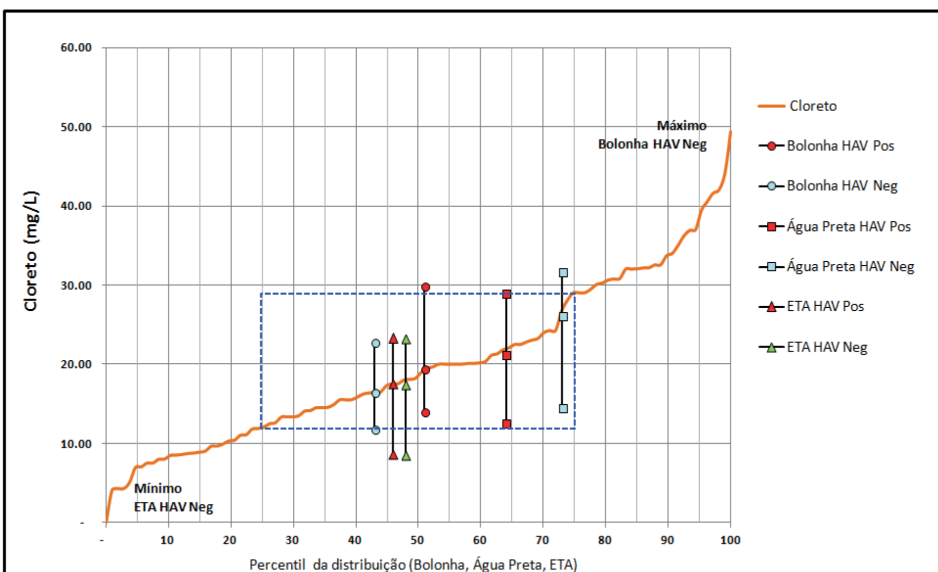
p-valor <0.0001*, Kruskal-Wallis

Tabela 22 – Distribuição do Cloreto (mg/L) nas amostras de água procedentes do manancial do Utinga, e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

	Bolonha		Água Preta		ETA	
Cloreto (mg/L)	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**
n amostral	15	21	18	18	15	21
Mínimo	8.87	7.49	7.99	9.63	4.27	0.00
Máximo	39.46	49.37	44.05	41.62	30.76	35.03
Amplitude	30.59	41.88	36.06	31.99	26.49	35.03
Mediana	19.46	16.46	21.30	26.15	14.06	17.50
Percentil 25	13.98	11.78	12.59	14.59	8.73	8.58
Percentil 75	29.86	22.80	29.00	31.71	20.21	23.26
Média Aritmética	21.87	20.55	21.95	24.14	15.42	17.10
Desvio Padrão	9.22	11.97	10.91	10.38	8.92	10.41
Coef. Variação	42.2%	58.2%	49.7%	43.0%	57.9%	60.9%
p-valor		0.5336		0.5649		0.6714

Teste de Mann-Whitney

Gráfico 29 – Distribuição do cloreto nas amostras de água procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



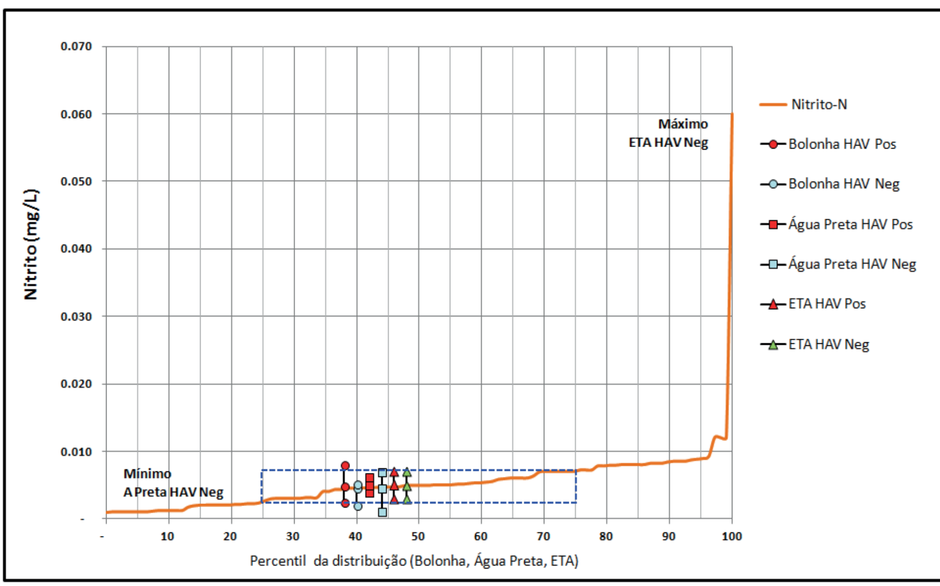
p-valor =0.1778, Kruskal-Wallis

Tabela 23 – Distribuição do Nitrito (mg/L) nas amostras de água procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

	Bolonha		Água Preta		ETA	
Nitrito-N	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**
n amostral	15	21	18	18	15	21
Mínimo	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Máximo	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.06
Amplitude	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.06
Mediana	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01
Percentil 25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Percentil 75	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Média Aritmética	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01
Desvio Padrão	0.01	0.00	0.01	0.01	0.01	0.01
Coef. Variação	110.7%	162.0%	103.3%	109.3%	84.5%	170.7%
p-valor		0.3605		0.5554		0.8098

Teste de Mann-Whitney

Gráfico 30 – Distribuição de Nitrito nas amostras de água procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



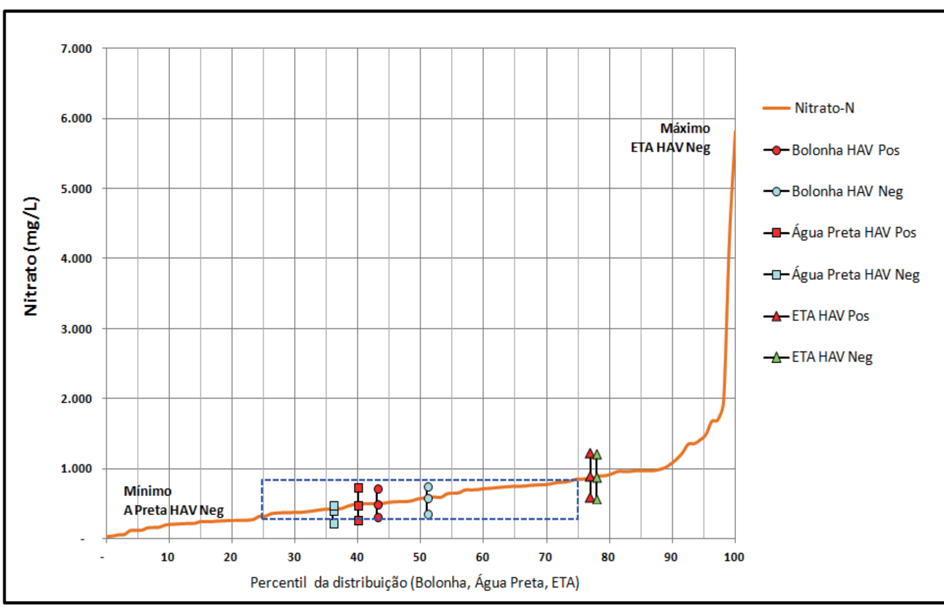
p-valor =0.6150, Kruskal-Wallis

Tabela 24 – Distribuição do Nitrato (mg/L) nas amostras de água procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

	Bolonha		Água Preta		ETA	
Nitrato-N	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**
n amostral	15	21	18	18	15	21
Mínimo	0.11	0.03	0.05	0.02	0.11	0.20
Máximo	0.85	0.96	0.90	0.95	4.29	5.81
Amplitude	0.74	0.93	0.85	0.93	4.18	5.61
Mediana	0.50	0.59	0.49	0.42	0.76	0.89
Percentil 25	0.32	0.37	0.27	0.24	0.31	0.59
Percentil 75	0.73	0.75	0.74	0.49	1.24	1.22
Média Aritmética	0.50	0.58	0.51	0.41	1.00	1.09
Desvio Padrão	0.26	0.29	0.28	0.24	1.07	1.16
Coef. Variação	52.3%	49.8%	54.7%	58.6%	107.2%	106.5%
p-valor		0.3605		0.3179		0.5004

Teste de Mann-Whitney

Gráfico 31 – Distribuição do Nitrato nas amostras de água procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



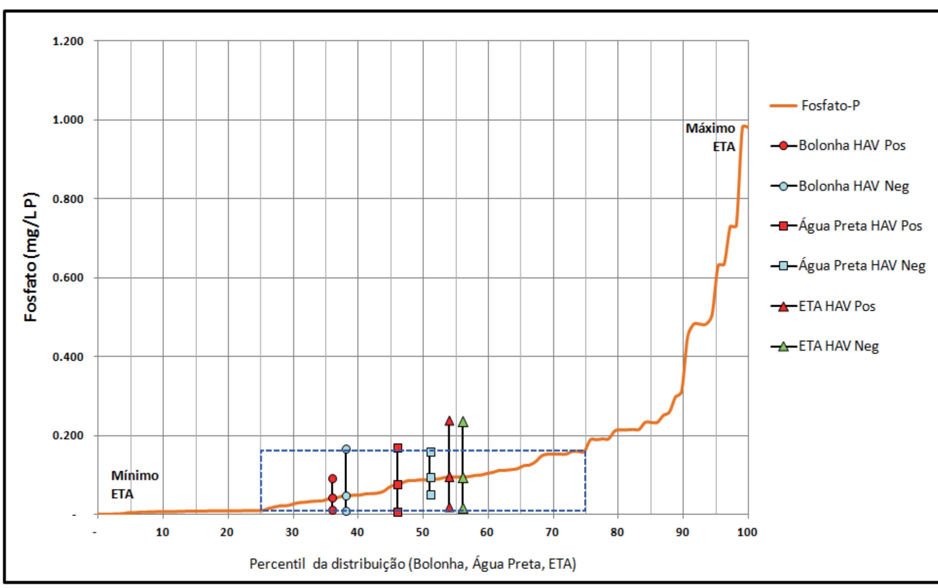
p-valor =0.00071, Kruskal-Wallis

Tabela 25 – Distribuição do Fosfato (mg/L P) nas amostras de procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

	Bolonha		Água Preta		ETA	
Fosfato (mg/L P)	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**	**HAV Pos**	**Neg**
n amostral	15	21	18	18	15	21
Mínimo	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Máximo	0.48	0.23	0.31	0.48	0.73	0.98
Amplitude	0.47	0.23	0.31	0.48	0.73	0.98
Mediana	0.04	0.05	0.08	0.10	0.04	0.10
Percentil 25	0.02	0.01	0.01	0.05	0.02	0.02
Percentil 75	0.09	0.17	0.17	0.16	0.19	0.24
Média Aritmética	0.09	0.09	0.10	0.14	0.19	0.20
Desvio Padrão	0.13	0.08	0.09	0.14	0.27	0.26
Coef. Variação	143.9%	92.7%	97.2%	99.3%	145.4%	132.8%
p-valor		0.6871		0.3671		0.7102

Teste de Mann-Whitney

Gráfico 32 – Distribuição do Fosfato nas amostras de procedentes do manancial do Utinga e ETA no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



p-valor =0.7346 , Kruskal-Wallis

5.3.2 Relação entre as variáveis físico-químicas e o VHA1

Dentre todas as variávies físico-químicas analisadas, o pH, o cloro livre e o OD apresentaram associações signifivativas quanto à presença do VHA1 nas amostras de água. O OD mostrou relação negativa nas amostras dos lagos e o pH e cloro livre mostraram relação positiva e negativa respectivamente, nas amostras da ETA (Tabela 26).

Tabela 26 – Resultado da relação entre as variáveis físico-químicas e VHA1 nos pontos de coleta

Variáveis físico-químicas	*p*= Valor
pH	0,0015
Cloro livre	0,0058
OD	0,0277

Regressão logística simples

5.3.3 Correlação entre as variáveis físico-químicas e a densidade de bactérias do grupo coliformes no manancial do Utinga

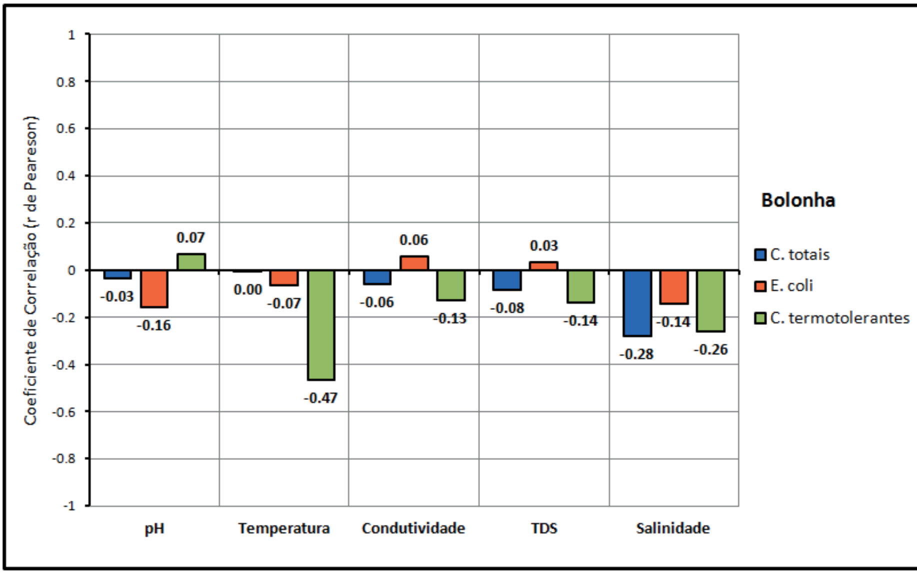
Na correlação entre os resultados bacteriológicos e físico-químicos, observou-se que no Lago Bolonha a temperatura foi à única variável que apresentou correlação negativa com os coliformes termotolerantes *p valor* 0,0041* (tabela 27 e gráfico 33). No Lago Água Preta o pH apresentou correlação positiva e OD correlação negativa, ambos com coliformes termotolerantes. Enquanto o cloreto apontou uma correlação negativa com coliformes totais (Tabelas 29, 30 e 31 e gráficos 36, 37 e 38).

Tabela 27 – Correlação das variáveis físico-químicas nas amostras de água coletas no Lago Bolonha no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

BOLONHA	pH	Temperatura	Condutividade	TDS	Salinidade
C. totais					
Coef. Correlação	-0.0333	-0.0035	-0.0614	-0.0846	-0.2799
I. Confiança 95%	-0.36 a 0.30	-0.33 a 0.33	-0.38 a 0.27	-0.40 a 0.25	-0.56 a 0.05
p-valor	0.8472	0.9838	0.7219	0.6238	0.0982
E. coli					
Coef. Correlação	-0.1554	-0.0656	0.0578	0.0319	-0.1438
I. Confiança 95%	-0.46 a 0.18	-0.39 a 0.27	-0.28 a 0.38	-0.30 a 0.36	-0.45 a 0.19
p-valor	0.3655	0.704	0.7375	0.8534	0.4026
C. termotolerantes					
Coef. Correlação	0.0698	-0.4664	-0.1266	-0.1384	-0.2602
I. Confiança 95%	-0.26 a 0.39	-0.69 a -0.16	-0.44 a 0.21	-0.45 a 0.20	-0.54 a 0.07
p-valor	0.6857	0.0041*	0.4618	0.4207	0.1252

*Correlação Linear de Pearson

Gráfico 33 – Correlação das variáveis físico-químicas nas amostras de água coletas no Lago Bolonha no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



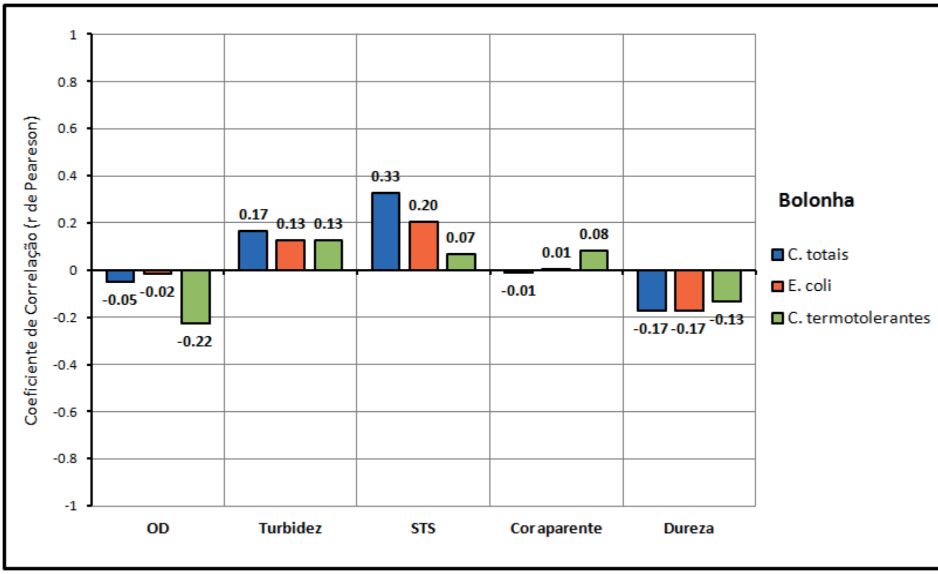
Fonte: Próprio autor

Tabela 28 – Correlação das variáveis físico-químicas nas amostras de água coletas no Lago Bolonha no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

BOLONHA	OD	Turbidez	STS	Cor aparente	Dureza
C. totais					
Coef. Correlação	-0.0484	0.1675	0.3285	-0.0093	-0.1714
I. Confiança 95%	-0.37 a 0.28	-0.17 a 0.47	0.00 a 0.59	-0.34 a 0.32	-0.47 a 0.17
p-valor	0.7791	0.3287	0.0503	0.9572	0.3176
E. coli					
Coef. Correlação	-0.0152	0.125	0.2031	0.0059	-0.1736
I. Confiança 95%	-0.34 a 0.31	-0.21 a 0.44	-0.13 a 0.50	-0.32 a 0.33	-0.48 a 0.16
p-valor	0.9299	0.4675	0.2347	0.9726	0.3111
C. termotolerantes					
Coef. Correlação	-0.2243	0.1273	0.0682	0.0812	-0.1346
I. Confiança 95%	-0.51 a 0.11	-0.21 a 0.44	-0.27 a 0.39	-0.25 a 0.40	-0.44 a 0.20
p-valor	0.1885	0.4592	0.6927	0.6379	0.4337

*Correlação Linear de Pearson

Gráfico 34 – Correlação das variáveis físico-químicas nas amostras de água coletas no Lago Bolonha no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



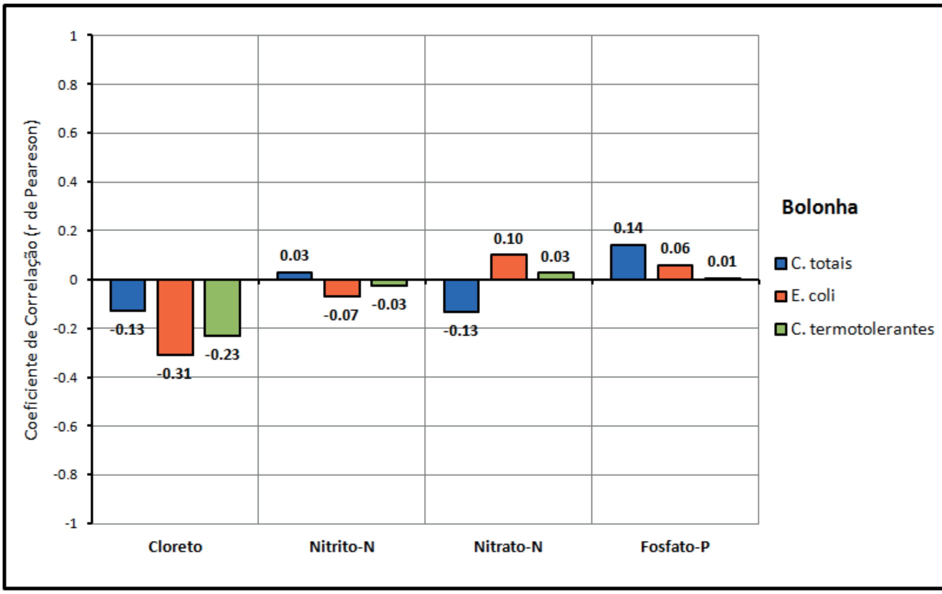
Fonte: Próprio autor

Tabela 29 – Correlação das variáveis físico-químicas nas amostras de água coletas no Lago Bolonha no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

BOLONHA	Cloreto	Nitrito-N	Nitrato-N	Fosfato-P
C. totais				
Coef. Correlação	-0.1263	0.029	-0.1311	0.1398
I. Confiança 95%	-0.44 a 0.21	-0.30 a 0.35	-0.44 a 0.21	-0.20 a 0.45
p-valor	0.4628	0.8669	0.4461	0.4159
E. coli				
Coef. Correlação	-0.3109	-0.0683	0.0998	0.0571
I. Confiança 95%	-0.58 a 0.02	-0.39 a 0.27	-0.24 a 0.41	-0.28 a 0.38
p-valor	0.0648	0.6924	0.5625	0.7409
C. termotolerantes				
Coef. Correlação	-0.2292	-0.027	0.0263	0.0059
I. Confiança 95%	-0.52 a 0.11	-0.35 a 0.30	-0.30 a 0.35	-0.32 a 0.33
p-valor	0.1787	0.8758	0.8789	0.9727

*Correlação Linear de Pearson

Gráfico 35 – Correlação das variáveis físico-químicas nas amostras de água coletas no Lago Bolonha no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



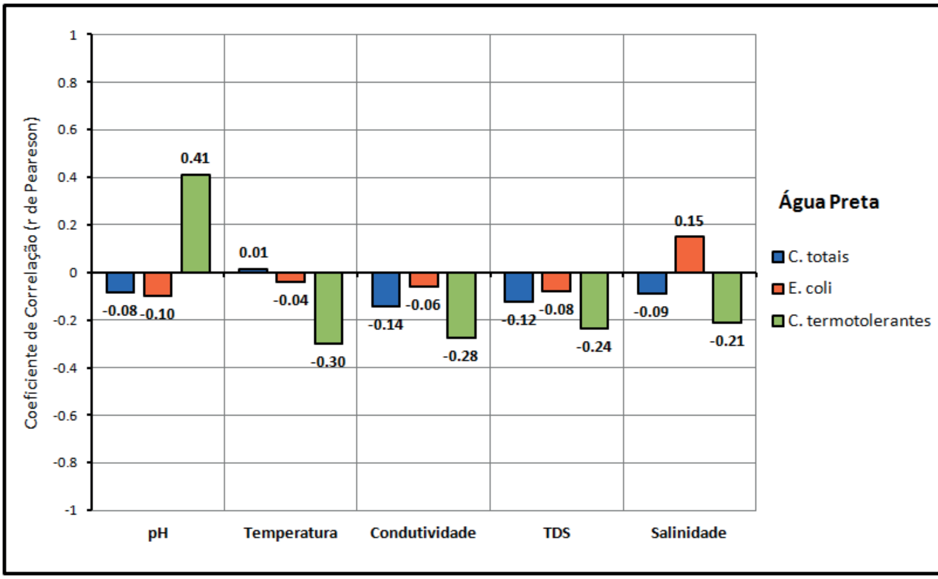
Fonte: Próprio autor

Tabela 30 – Correlação das variáveis físico-químicas nas amostras de água coletas no Lago Água Preta no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

ÁGUA PRETA	pH	Temperatura	Condutividade	TDS	Salinidade
C. totais					
Coef. Correlação	-0.0821	0.0146	-0.1414	-0.1231	-0.0894
I. Confiança 95%	-0.40 a 0.25	-0.32 a 0.34	-0.45 a 0.20	-0.43 a 0.21	-0.41 a 0.25
p-valor	0.6341	0.9324	0.4109	0.4746	0.6040
E. coli					
Coef. Correlação	-0.0994	-0.0411	-0.0587	-0.079	0.1487
I. Confiança 95%	-0.41 a 0.24	-0.36 a 0.29	-0.38 a 0.28	-0.40 a 0.26	-0.19 a 0.45
p-valor	0.5641	0.8119	0.7340	0.6468	0.3868
C. termotolerantes					
Coef. Correlação	0.4097	-0.2995	-0.2753	-0.2357	-0.2111
I. Confiança 95%	0.09 a 0.65	-0.57 a 0.03	-0.55 a 0.06	-0.52 a 0.10	-0.50 a 0.13
p-valor	0.0130*	0.0758	0.1040	0.1663	0.2164

*Correlação Linear de Pearson

Gráfico 36 – Correlação das variáveis físico-químicas nas amostras de água coletas no Lago Água Preta no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



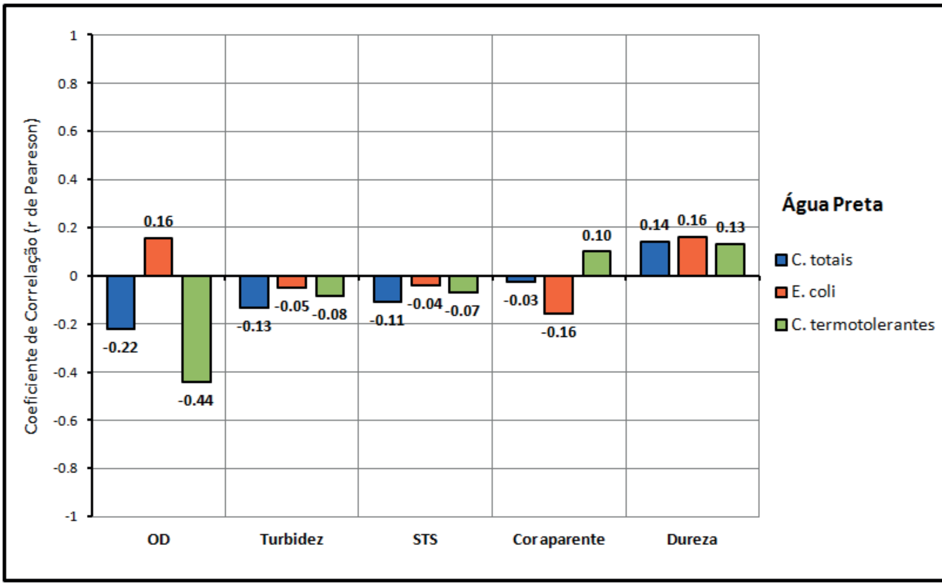
Fonte: Próprio autor

Tabela 31 – Correlação das variáveis físico-químicas nas amostras de água coletas no Lago Água Preta no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

ÁGUA PRETA	OD	Turbidez	STS	Cor aparente	Dureza
C. totais					
Coef. Correlação	-0.2225	-0.1315	-0.1094	-0.0273	0.1406
I. Confiança 95%	-0.51 a 0.11	-0.44 a 0.21	-0.42 a 0.23	-0.35 a 0.30	-0.20 a 0.45
p-valor	0.1920	0.4446	0.5254	0.8745	0.4133
E. coli					
Coef. Correlação	0.1564	-0.0505	-0.0384	-0.1575	0.1589
I. Confiança 95%	-0.18 a 0.46	-0.37 a 0.28	-0.36 a 0.29	-0.46 a 0.18	-0.18 a 0.46
p-valor	0.3622	0.7697	0.8239	0.3588	0.3544
C. termotolerantes					
Coef. Correlação	-0.4419	-0.0834	-0.0711	0.0996	0.1298
I. Confiança 95%	-0.67 a -0.13	-0.40 a 0.25	-0.39 a 0.26	-0.24 a 0.41	-0.21 a 0.44
p-valor	0.0069*	0.6286	0.6803	0.5633	0.4506

*Correlação Linear de Pearson

Gráfico 37 – Correlação das variáveis físico-químicas nas amostras de água coletas no Lago Água Preta no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



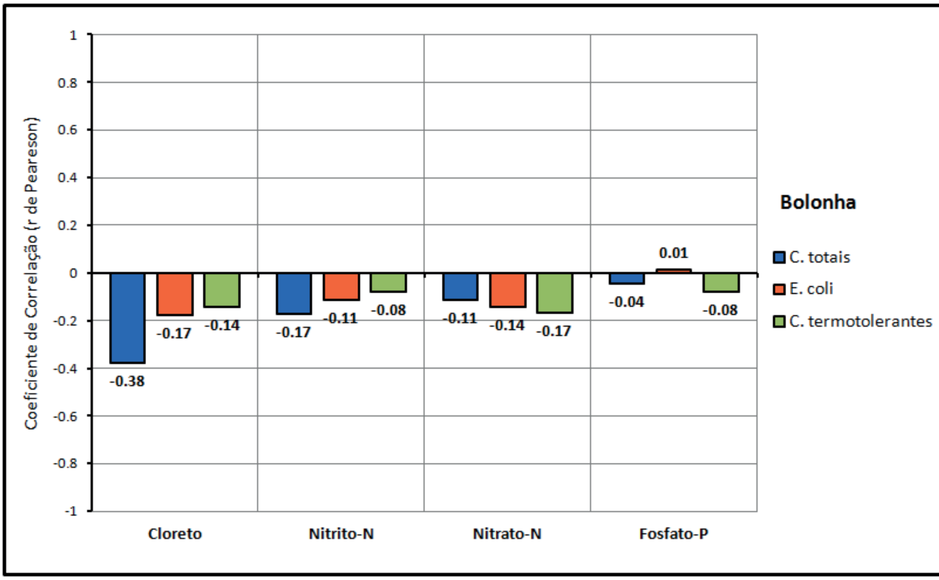
Fonte: Próprio autor

Tabela 32 – Correlação das variáveis físico-químicas nas amostras de água coletas no Lago Água Preta no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

ÁGUA PRETA	Cloreto	Nitrito-N	Nitrato-N	Fosfato-P
C. totais				
Coef. Correlação	-0.3796	-0.1715	-0.1126	-0.0433
I. Confiança 95%	-0.63 a -0.06	-0.47 a 0.17	-0.43 a 0.22	-0.37 a 0.29
p-valor	0.0224*	0.3173	0.5133	0.8018
E. coli				
Coef. Correlação	-0.1749	-0.1128	-0.1444	0.0141
I. Confiança 95%	-0.48 a 0.16	-0.43 a 0.22	-0.45 a 0.19	-0.32 a 0.34
p-valor	0.3077	0.5123	0.4008	0.9348
C. termotolerantes				
Coef. Correlação	-0.1424	-0.0811	-0.1682	-0.0807
I. Confiança 95%	-0.45 a 0.20	-0.40 a 0.25	-0.47 a 0.17	-0.40 a 0.25
p-valor	0.4074	0.6381	0.3266	0.6398

*Correlação Linear de Pearson

Gráfico 38 – Correlação das variáveis físico-químicas nas amostras de água coletas no Lago Água Preta no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

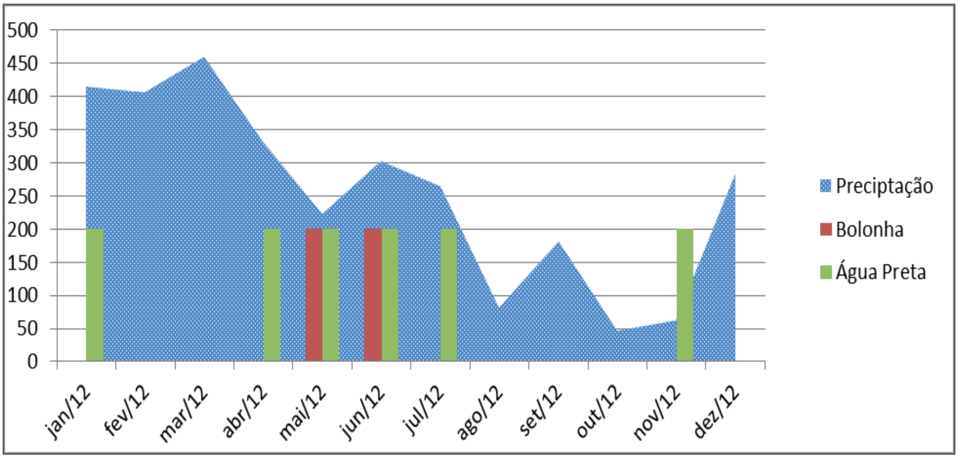


Fonte: Próprio autor

5.4 INFLUÊNCIA DA SAZONALIDADE NA OCORRÊNCIA DO VHA1

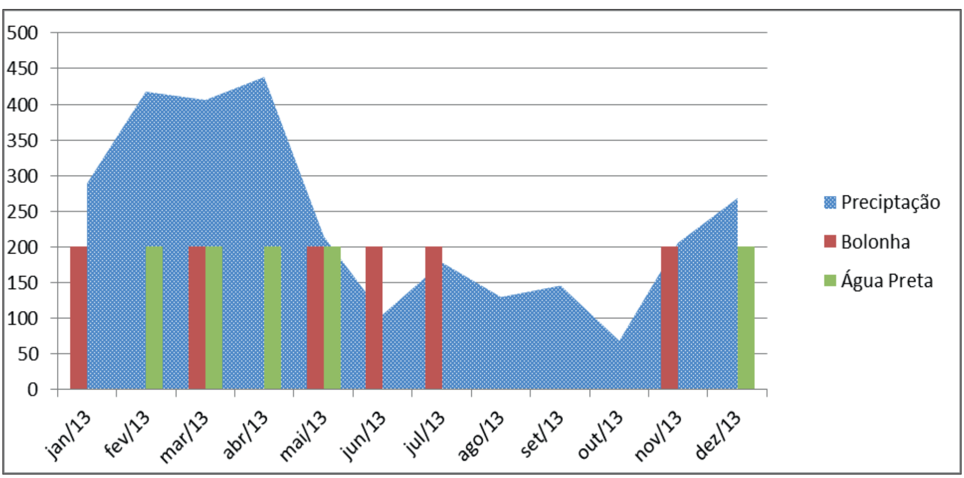
Levando em consideração à precipitação pluviométrica verificou-se que em ambos os lagos não houve detecção do vírus nos meses de agosto, setembro e outubro no ano de 2012 e 2013. Os referidos meses são considerados os de menor precipitação na região amazônica. Por outro lado, no ano de 2014 pôde-se observar que o vírus foi detectado praticamente em todo período do ano, exceto no mês de março, em que a precipitação é bastante elevada (gráficos 39, 40 e 41).

Gráfico 39 – Descrição da ocorrência do VHA1 no manancial do Utinga no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2012



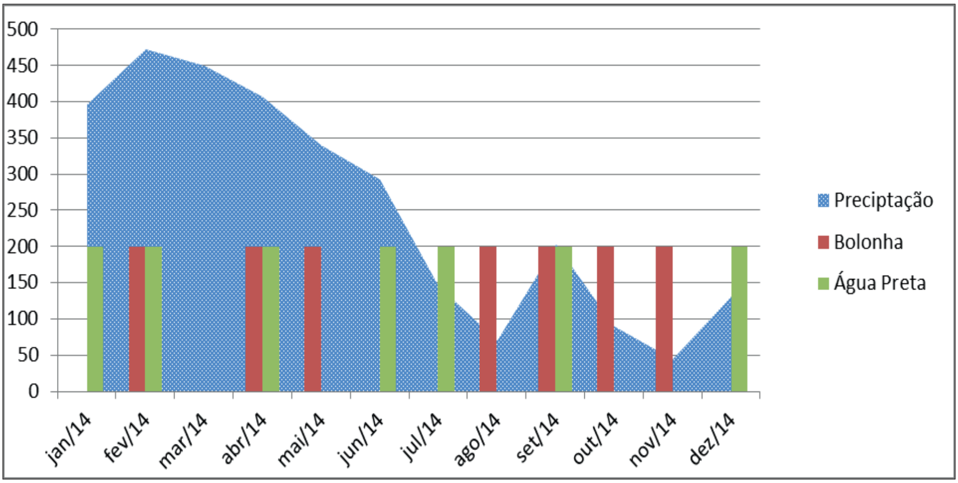
Fonte: Próprio autor

Gráfico 40 – Descrição da ocorrência do VHA1 no manancial do Utinga no período de janeiro de 2013 a dezembro de 2013



Fonte: Próprio autor

Grafico 41 – Descrição da ocorrência do VHA1 no manancial do Utinga no período de janeiro de 2014 a dezembro de 2014



Fonte: Próprio autor

Conforme ilustrado nos gráficos acima a detecção do genoma do VHA1 foi maior durante o período chuvoso com maior número de amostras positivas e no período menos chuvoso que compreende os meses de junho a novembro apresentaram menor número de amostras positivas como pode ser observado na tabela 33. No entanto, ao longo do período do estudo, não se observou diferença significativa entre a precipitação pluviométrica e a presença do vírus.

Tabela 33 – Ocorrência do VHA 1 nos períodos Chuvoso (dez-mai) e Seco (jun-nov)

		L.Bolonha		**L. Água Preta**		**ETA**		**Geral**	
		N	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**	**N**	**%**
Período Seco									
VHA1	Positivos	8	44.4	6	33.3	7	38.9	21	38.9
	Negativos	10	55.6	12	66.7	11	61.1	33	61.1
Período Chuvoso									
VHA1	Positivos	7	38.9	12	66.7	8	44.4	27	50.0
	Negativos	11	61.1	6	33.3	10	55.6	27	50.0
Inferência	**p-valor**	**0.9987**		**0.0956**		**0.9986**		**0.3229**	

Qui-quadrado

5.5 ANÁLISE DAS VARIÁVEIS CLIMÁTOLÓGICAS

5.5.1 Avaliação das variáveis climatológicas conforme a presença e ausência do VHA1

Os dados das variáveis climatológicas foram coletados levando em consideração os dias mais próximos da coleta de água. A tabela 34 mostra a estatística descritiva das variáveis como: temperatura, umidade, pressão, radiação e precipitação. Nas tabelas 35 e 36 foi possível observar que as diferenças não foram significativas entre estas variáveis e a presença do VHA1 em ambos os lagos.

Tabela 34 – Distribuição das variáveis climatológicas no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

Variáveis Climáticas	Mín	Máx	Mediana	P 25	P 75	Média	D Padrão
Temperatura (OC)	22.0	29.0	25.0	24.0	26.0	25.4	1.4
Umidade (%)	72.0	94.0	91.0	85.3	93.3	88.5	6.3
Pressão (hPa)	1007.0	1013.0	1010.0	1009.0	1011.0	1009.9	1.5
Radiação (kJm2)	35.0	503.0	80.0	48.0	329.8	175.8	172.3
Precipitação(mm)	1.0	156.0	39.0	15.8	91.3	51.7	42.7

Tabela 35 – Avaliação das variáveis climatológicas conforme a presença e ausência do VHA 1nas amostras de água do Lago Bolonha no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

BOLONHA	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	D Padrão	p-valor
Temperatura C						0.2970
VHA Presente	22.0	27.0	25.0	25.0	1.3	
Ausente	23.0	29.0	25.0	25.6	1.5	
Umidade %						0.4903
VHA Presente	75.0	94.0	93.0	89.3	6.5	
Ausente	72.0	94.0	90.0	87.9	6.3	
Pressão (hPa)						0.8652
VHA Presente	1007.0	1013.0	1010.0	1009.9	1.4	
Ausente	1007.0	1013.0	1010.0	1010.0	1.5	
Radiação kJm2						0.6494
VHA Presente	38.0	489.0	89.0	160.1	172.2	
Ausente	35.0	503.0	76.0	187.1	175.8	
Precipitação mm						0.7740
VHA Presente	1.0	112.0	43.0	49.2	39.2	
Ausente	1.0	156.0	39.0	53.4	45.8	

Teste t de Student e teste U de Mann-Whitney

Tabela 36 – Avaliação das variáveis climatológicas conforme a presença e ausência do VHA 1nas amostras de água do Lago Água Preta no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

ÁGUA PRETA	Mínimo	Máximo	Mediana	Média	D Padrão	p-valor
Temperatura C						0.8002
VHA Presente	22.0	28.0	25.5	25.3	1.5	
Ausente	24.0	29.0	25.0	25.4	1.4	
Umidade %						0.1545
VHA Presente	78.0	94.0	92.5	90.2	5.1	
Ausente	72.0	94.0	87.5	86.8	7.0	
Pressão (hPa)						0.9111
VHA Presente	1007.0	1013.0	1010.0	1009.9	1.4	
Ausente	1007.0	1013.0	1010.0	1009.9	1.5	
Radiação kJm2						0.2957
VHA Presente	36.0	399.0	86.5	145.4	137.5	
Ausente	35.0	503.0	74.0	206.3	200.7	
Precipitação mm						0.2071
VHA Presente	12.0	136.0	54.0	60.7	40.4	
Ausente	1.0	156.0	30.0	42.6	44.1	

Teste t de Student e teste U de Mann-Whitney

5.5.2 Correlação entre as variáveis climatológicas e os indicadores bacteriológicos da qualidade da água proveniente do manancial do Utinga.

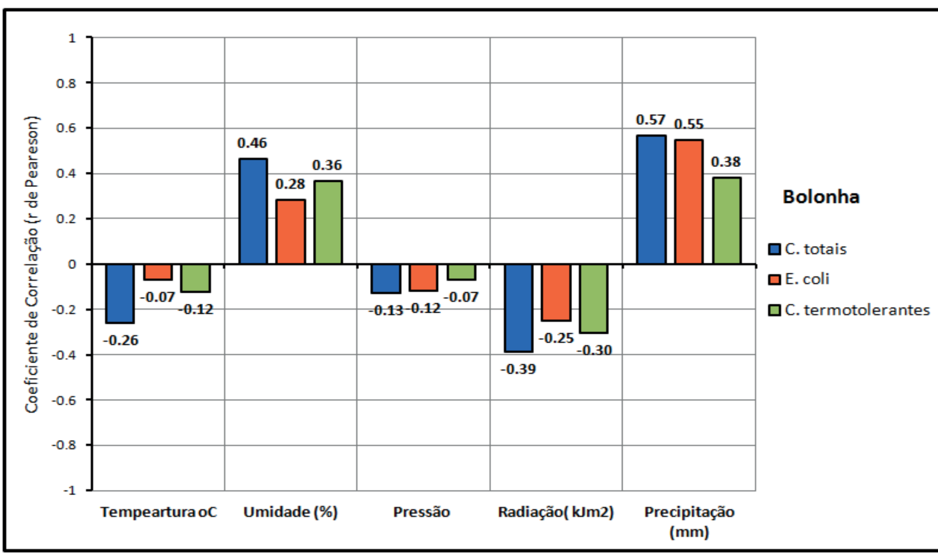
De acordo com os dados obtidos das variáveis climatológicas a precipitação foi à única que apresentou correlação positiva para os indicadores de contaminação da qualidade da água, principalmente no Lago Bolonha. A umidade relativa do ar apresentou correlação positiva com os coliformes totais e termotolerantes e a radiação correlação negativa com os coliformes totais (Tabela 37 e Gráfico 42).

Tabela 37 – Correlação das variáveis climatológicas nas amostras de água do Lago Bolonha no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

Bolonha	Temperatura (oC)	Umidade (%)	Pressão (hPa)	Radiação (kJm2)	Precipitação (mm)
C. totais					
Coef. Correlação	-0.2613	0.4644	-0.1297	-0.3862	0.5683
I. Confiança 95%	-0.54 a 0.07	0.16 a 0.69	-0.44 a 0.21	-0.63 a -0.07	0.29 a 0.76
p-valor	0.1237	0.0043*	0.4507	0.0199*	0.0003*
E. coli					
Coef. Correlação	-0.0694	0.2833	-0.1192	-0.2515	0.5471
I. Confiança 95%	-0.39 a 0.27	-0.05 a 0.56	-0.43 a 0.22	-0.54 a 0.08	0.27 a 0.74
p-valor	0.6876	0.0940	0.4885	0.1388	0.0005*
C. termotolerantes					
Coef. Correlação	-0.1229	0.3646	-0.068	-0.3019	0.3817
I. Confiança 95%	-0.43 a 0.21	0.04 a 0.62	-0.39 a 0.27	-0.57 a 0.03	0.06 a 0.63
p-valor	0.4753	0.0287*	0.6935	0.0735	0.0215*

*Correlação Linear de Pearson

Gráfico 42 – Correlação das variáveis climatológicas nas amostras de água do Lago Bolonha no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



Fonte: Próprio autor

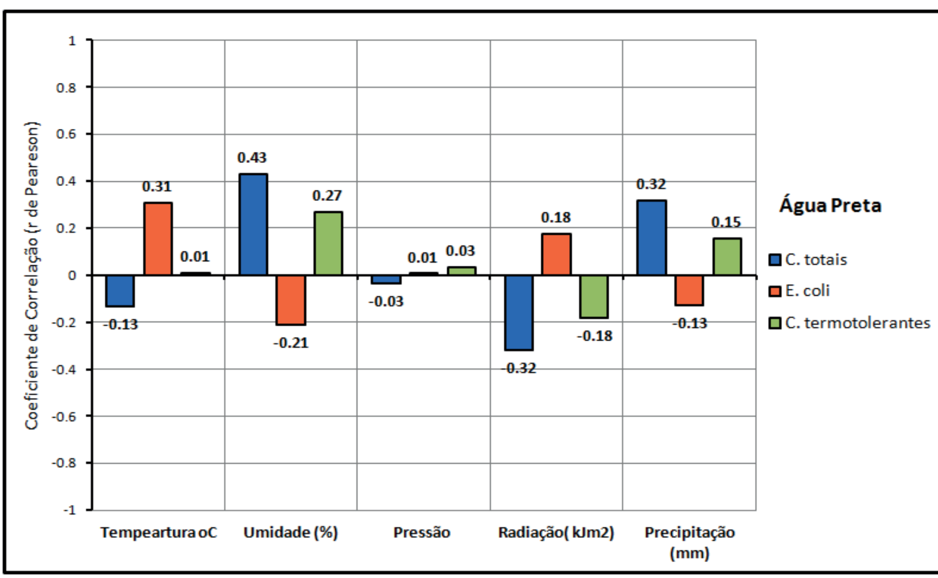
Já no Lago Agua Preta, observou-se uma correlação positiva da umidade relativa do ar com os coliformes totais no lago Água Preta, com valor de p= 0.0087 (Tabela 38 e Gráfico 43).

Tabela 38 – Correlação das variáveis climatológicas nas amostras de água do Lago Água Preta no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014

Água Preta	Temperatura (oC)	Umidade (%)	Pressão (hPa)	Radiação (kJm2)	Precipitação (mm)
C. totais					
Coef. Correlação	-0.1344	0.4308	-0.0333	-0.3196	0.316
I. Confiança 95%	-0.44 a 0.20	0.12 a 0.67	-0.36 a 0.30	-0.59 a 0.01	-0.01 a 0.58
p-valor	0.4344	0.0087*	0.8471	0.0574	0.0604
E. coli					
Coef. Correlação	0.3069	-0.2097	0.0068	0.177	-0.1296
I. Confiança 95%	-0.02 a 0.58	-0.50 a 0.13	-0.32 a 0.33	-0.16 a 0.48	-0.44 a 0.21
p-valor	0.0686	0.2195	0.9688	0.3017	0.4512
C. termotolerantes					
Coef. Correlação	0.0084	0.2681	0.0322	-0.184	0.1545
I. Confiança 95%	-0.32 a 0.34	-0.07 a 0.55	-0.30 a 0.36	-0.48 a 0.15	-0.18 a 0.46
p-valor	0.9611	0.1138	0.8523	0.2826	0.3682

*Correlação Linear de Pearson

Gráfico 43 – Correlação das variáveis climatológicas nas amostras de água do Água Preta no período de janeiro de 2012 a dezembro de 2014



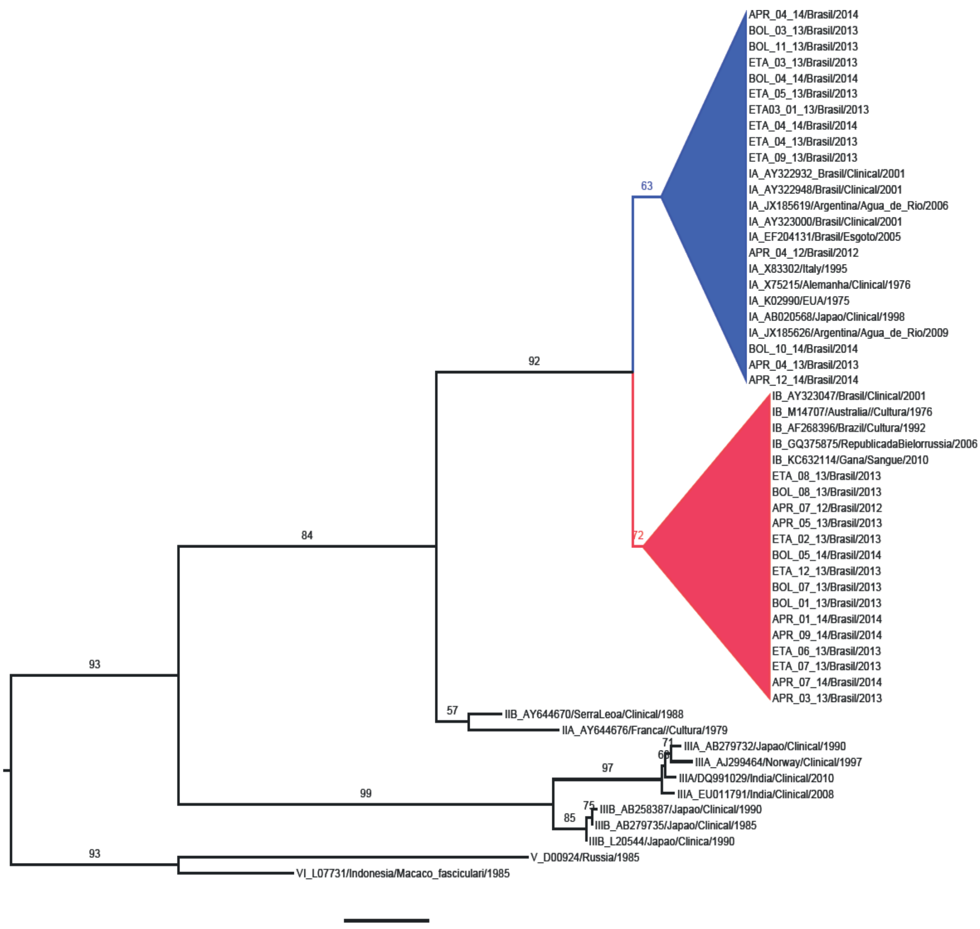
Fonte: Próprio autor

5.6 GENÓTIPOS CIRCULANTES

Das 48 amostras positivas, 29 amostras foram adequadas para análise filogenética, dessas 29 amostras genotipadas, 48% (14/29) agruparam com isolados do genótipo I subtipo A em cor azul e as 52% (15/29) sequências agruparam com genótipos IB destacado em cor vermelha (Figura 8).

A identidade entre os isolados variou de 97% a 100% para os subgenótipos IA e 96% a 99% entre os subgenótipos IB.

Figura 8 – Árvore filogenética utilizando um fragmento de aproximadamente 267 nucleotídeos da região de junção VP1/2A para genotipagem do vírus de hepatite A detectados no manancial do Utinga (em destaque) e de cepas cujas sequências estão disponíveis em banco de dados, utilizando o modelo bayesiano com probabilidade posterior de 100



5.7 DISCUSSÃO

Dentre as inúmeras doenças de veiculação hídrica decorrentes da ingestão de água contaminada, destaca-se a Hepatite A, que tem sido considerado um importante problema de saúde pública em muitos países, incluindo o Brasil, pois é uma enfermidade diretamente relacionada às condições socioeconômicas e a falta de água potável e saneamento básico. Apesar do Brasil nos últimos anos ter apresentado melhorias no que diz respeito ao saneamento, principalmente nas regiões Sul e Sudeste, que apresentam melhores indicadores sanitários, quando comparados às regiões norte e nordeste, a Hepatite A é motivo de preocupação constante e que tem demandado bastante trabalho do ponto de vista da vigilância epidemiológica e ambiental em saúde.

A vigilância da qualidade da água destinada ao consumo humano tem como finalidade principal o mapeamento de áreas de risco em determinado território, quanto às características de potabilidade, com vista a assegurar a qualidade da mesma a fim de evitar que as pessoas adoeçam pela presença de patógenos ou contaminantes (BRASIL, 2002), que atualmente a legislação brasileira que trata sobre o controle e vigilância da qualidade da água destinada ao consumo humano (Portaria nº 2.914 de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde) utiliza como indicador microbiológico de contaminação os coliformes, em especial a *Escherichia coli*, entretanto a ausência deste indicador não tem assegurado ausência dos vírus, sobretudo, os entéricos causadores de doenças de veiculação hídrica, inclusive a Hepatite A (MIAGOSTOVICH et al., 2008; ESPINOSA et al., 2009; VIEIRA et al., 2012). Devido a este fato, a mesma Portaria recomenda nas suas seções II e III, art. 11 e 12 a pesquisa de vírus quando dados epidemiológicos apontarem a água como via de transmissão. Recomenda ainda no capítulo V, art. 29, "a inclusão do monitoramento de vírus entéricos no(s) ponto(s) de captação de água proveniente(s) de manancial (is) superficial (is) de abastecimento, com o objetivo de subsidiar estudos de avaliação de risco microbiológico".

No contexto da vigilância ambiental para o vírus da Hepatite A, o Laboratório de Microbiologia Ambiental da Seção de Meio Ambiente do Instituto Evandro Chagas-Ananindeua-PA, no período de 2012 até o presente momento colaborou na investigação de 41 surtos de Hepatite A ocorridos em diferentes estados do Brasil (Pará, Amazonas, Tocantins, Acre, Minas Gerais, Amapá e Distrito Federal) dentre os quais, 13 tiveram suas fontes de contaminação pelo VHA identificadas (dados não publicados).

Neste contexto este estudo visou avaliar a qualidade da água do manancial do Utinga, que inclui o lago Bolonha, o lago Água Preta e a estação de tratamento de água Bolonha - ETA Bolonha, que representa a mais importante fonte de água para abastecimento público de Belém e Ananindeua-PA. No entorno dos referidos lagos existem vários agravantes que provavelmente propiciam o comprometimento da qualidade da água superficial dos lagos, fato este atestado pelos altos níveis de contaminação por coliformes encontrados

na área ao longo do período deste estudo. A descarga de dejetos humanos, lançados *in natura* diretamente no Bolonha, em razão da ocupação desordenada em seu entorno e a proximidade do lago Água Preta do lixão do Áura, podem ter contribuído significativamente para estes achados. Além das altas concentrações de coliformes encontradas nas águas superficiais do manancial do Utinga, o VHA1 foi detectado em mais de 40% das amostras de água dos lagos analisadas o que juntamente com os resultados quantitativos encontrados para *E. coli* comprovam que os lagos estão sendo impactados por dejetos de origem fecal humana.

Em razão da contínua descarga de efluente nos mananciais superficiais do Parque Estadual do Utinga é recorrente a intensa proliferação de macrófitas aquáticas. Este fenômeno ocorre mais expressivamente no lago Bolonha em razão do acúmulo de altas concentrações de nutrientes, necessários para seu pleno desenvolvimento, entretanto, os referidos nutrientes do meio hídrico também podem estar representados por poluentes orgânicos (esgotos residenciais, resíduos vegetais e animais) ou inorgânicos (esgotos industriais, produtos de limpeza, metais e resíduos petroquímicos) e por isso as macrófitas são por vezes referidas como plantas devoradoras de poluição (LEITÃO JUNIOR et al., 2007).

Espécies de plantas aquáticas superiores como o aguapé (*Eichhornia crassipes*) e o alface-d´água (*Pistia stratiotes*), as que mais abundantemente se proliferam no lago Bolonha em razão do estágio avançado de eutrofização do mesmo, tem demonstrado papel significativo na adsorção e absorção de substâncias tóxicas, orgânicas e microrganismos em ambientes aquáticos contaminados, sobretudo aqueles impactados por esgotos, pois desempenham atividades filtradoras que terminam por melhorar a qualidade da água, além de formar em uma densa rede capaz de reter as mais finas partículas em suspensão, onde os vírus, por exemplo, podem permanecer complexados e intactos por longos períodos, pois lhes é conferido, além de maior estabilidade e proteção contra a degradação por enzimas, proteção contra ação dos raios UV (DINIZ et al., 2005).

Apesar da expressiva contaminação por coliformes encontrada na água dos lagos do Parque Estadual do Utinga, este indicador de contaminação não foi detectado na saída da ETA Bolonha, provavelmente devido ao sucesso do tratamento dado a água nesta estação, que inclui coagulação, floculação, decantação, filtração e cloração, esta última em concentração suficiente para eliminar estas bactérias. No que concerne à presença do VHA1, chama atenção a detecção do seu genoma em 41,66% (15/36) neste ponto de amostragem corroborando a falta de correlação entre os atuais indicadores de contaminação fecal recente da água destinada ao consumo humano vigente no País e os vírus entéricos conforme também demonstrado por outros autores (ESPINOSA et al. 2009; VIEIRA et al., 2012) o que reforça a necessidade de revisão da legislação brasileira.

Ainda em relação à saída do tratamento da ETA Bolonha, observou-se no decorrer do período deste estudo um aumento abrupto do percentual de positividade para VHA1

que iniciou com 16,7% em 2012, foi para 83,3% em 2013 e 25% em 2014. Uma possível explicação para esta ocorrência em 2013 foi à retirada dos aguapés e alface-d´água de toda extensão deste lago que provavelmente filtravam a água do ambiente e serviam indiretamente de barreira física para os vírus, além disso, a movimentação mecânica promovida no lago, caracterizado como ambiente lêntico, para a retirada das plantas terminou por promover também a resuspensão do material particulado sedimentado ao longo tempo e como isso, a resuspensão de microrganismos complexados aos mesmos. Esta "limpeza" realizada pela COSANPA ocorreu no período de março a outubro de 2013 quando foram retirados 371 mil m^2 de vegetação aquática do Bolonha e 1,2 mil m^2 do Água Preta (http://177.74.2.17/noticia.asp?id_ver=138659).

É fato que as macrófitas desempenham um importante papel na despoluição de corpos hídricos, inclusive em estações de tratamento de esgotos (IRGANG; GASTAL JR., 1996) devido sua capacidade de extrair os nutrientes necessários para sua sobrevivência e filtrar o material particulado através de suas raízes, além de absorver metais pesados como prata, chumbo, mercúrio, cádmio e outros. Também promove a oxigenação do corpo hídrico, que é feita tanto pela parte aérea quanto pela ação bioquímica das bactérias que compõem o complexo ecossistema das raízes (ARAÚJO, 2015). Entretanto, a retirada da vegetação aquática dos lagos do Parque do Utinga, à época foi conduzida em razão dos baixos níveis de oxigênio dissolvido, prejudicial para vida aquática, das altas concentrações de matéria orgânica provenientes da decomposição dos vegetais mortos e sedimentados no fundo dos lagos e também em razão da migração dos mesmos para zona de captação de água bruta que comprometia a capacidade de absorção da água pela Elevatória de Água Bruta do Bolonha, a qual não poderia vir acompanhada de vegetação (macrófitas), pois causava entupimentos ou queimavam o maquinário e oneravam substancialmente a necessidade do tratamento dado a água na ETA Bolonha.

Com a introdução da reação em cadeia da polimerase-PCR e do PCR em tempo real nas investigações ambientais de vírus entéricos, uma variedade maior de tipos de vírus começaram a ser detectados nos ambientes aquáticos, o que representou um importante salto na vigilância das infecções virais de veiculação hídrica, sobretudo, por ocasião das investigações de surtos (BROOKS et al., 2005; KO et al., 2005) . Ocorre que as etapas que precedem os protocolos que utilizam ferramentas da biologia molecular para detecção e quantificação incluem a concentração das amostras de água que terminam por concentrar também outras substâncias biológicas e químicas (ácidos húmicos, fúlvicos, gorduras, proteínas, polifenóis, metais pesados) que interferem ou inibem os processos utilizados na detecção ou cultivo dos vírus (BOSCH et al., 2008), produzindo muitas vezes resultados falso-negativos.

O protocolo de concentração e detecção do genoma viral do VHA1 utilizado neste estudo foi utilizado também por outros grupos de pesquisadores Villar et al. (2007); De Paula et al. (2007); Rigotto et al. (2010), diferindo apenas na complexidade das matrizes

aquáticas estudadas e em alguns pequenos detalhes do procedimento geral. No computo geral dos resultados obtidos neste estudo, o percentual superior a 40% de positividade para VHA1 em água superficial foi semelhante ou maior que aquele obtido por Villar et al. (2007) que foi de 32% em amostras de esgoto, por De Paula et al. (2007) que foi de 23% em água de rio e Rigotto et al. (2010) com 16% em amostras de água de mar no Norte da Ilha de Santa Catarina. Estas diferenças nos percentuais podem ser atribuídas às matrizes ambientais e às características intrínsecas a cada ecossistema aquático que do ponto de vista físico-químico e microbiológico. Além disso, há de se considerar também o padrão de endemicidade da hepatite A regionalmente, pois ela difere conforme a observação de melhorias de diferentes aspectos sociais e econômicos.

Em razão da prevalência da hepatite A está diretamente relacionada ao seu modo transmissão fecal-oral, a condição socioeconômica e saneamento ambiental principalmente, o controle dos focos de transmissão se torna bastante complicado, pois neste contexto, a maioria das crianças menores de 5 anos de idade se infecta nos primeiros anos de vida e desenvolve a forma assintomática da doença favorecendo sobremaneira a manutenção da endemicidade da doença. Apesar da mudança observada na região norte que passou de altamente endêmica para hepatite A para o padrão intermediário, o achado de 83% das amostras da saída da ETA Bolonha positivas para o genoma do VHA1 é um fato preocupante e chama atenção, pois a disseminação do VHA1 na região metropolitana de Belém pode estar ocorrendo via sistema público de distribuição de água "potável".

Do ponto de vista físico-químico, foi observado que após a limpeza dos lagos, houve diferença significativa entre os anos estudados para as diferentes variáveis físico-químicas: condutividade, TDS, OD, STS, cor aparente, Nitrato e Nitrito. A condutividade, TDS, Nitrato e Nitrito apresentaram maiores concentrações em 2013 isto, no Lago Bolonha. Já o STS e cor aparente se destacaram por apresentarem concentrações mais elevadas em 2014 no Lago Água Preta. O Oxigênio dissolvido também se destacou no ano de 2014 por apresentar as menores concentrações em ambos os lagos, bem como os níveis de pH foram mais elevado neste mesmo ano tanto no Lago Bolonha como no Lago Água Preta. Demonstrando que a limpeza realizada nos lagos modificou as características habituais daquele ambiente, que a exemplo de 2013, tornou-se mais rica em nutrientes. E a diminuição dos níveis de OD e o aumento do pH em 2014 podem indicar o despejo de efluentes nos lagos.

Na ETA foi possível verificar que o pH foi mais elevado no ano de 2013. E no ano de 2014 as variáveis TDS, STS, Salinidade e Turbidez apresentaram valores de maiores concentrações. O cloro livre também se destacou por apresentar as maiores concentrações em 2014 e menores em 2013, que coincide com a maior detecção do VHA1 na ETA. Este composto químico é utilizado nas estações de tratamento para desinfecção da água, e é necessário que se mantenha um residual de cloro livre para garantir a potabilidade e ausência de patógenos na água de consumo e em baixas concentrações torna-se ineficaz para inativação do vírus.

Em relação aos fatores climatológicos, sabe-se que os mesmos podem influenciar diretamente na concentração de patógenos no ambiente aquático. Neste estudo a precipitação pluviométrica apresentou correlação positiva com indicadores bacteriológicos, principalmente no Lago Bolonha, este achado corrobora com outros estudos (JIANG; CHU; HE, 2007; ESPINOSA et al*.,* 2009).

Embora muitos coliformes não representem necessariamente organismos patogênicos, a sua presença indica a possível ocorrência de outros organismos entéricos, potencialmente infecciosos, como por exemplo, os vírus entéricos entre eles, o VHA1, que por sua vez não apresentou associação significativa com a precipitação pluviométrica, revelando que não há um padrão sazonal do vírus. Apesar de visualmente a análise gráfica dos dados deste estudo conduzirem à impressão de uma frequência maior de VHA1 no período chuvoso, o que corrobora com Villar et al. (2002), outros autores detectaram o vírus com maior frequência durante o verão (ESPINOSA et al., 2009).

Outros fatores que podem interferir na persistência dos vírus entéricos em amostras de água de superfície são as elevadas temperaturas, radiação que podem causar danos aos capsídeos virais e aos ácidos nucleicos, sobretudo os que possuem genoma de RNA (SANO et al., 2010). Neste estudo, nenhuma variável climatológica testada mostrou relação com a presença do vírus.

A busca de associações entre os parâmetros físico-químicos, inclusive processos de tratamento de água e a ocorrência dos vírus tem também sido realizada (CARTER, 2005; ASSIS et al., 2015). Nos lagos do manancial do Utinga foi possível observar uma associação negativa entre a presença do VHA1 e o OD. O Oxigênio Dissolvido é uma variável que está relacionada à decomposição da matéria orgânica, tornando-se muito importante para avaliação da qualidade da água, pois baixos níveis de OD podem indica despejos de origem orgânica, como esgotos domésticos ou efluentes industriais, o que pode justificar a relação negativa desta variável com a presença do VHA1 (VASCONCELOS; SOUZA, 2011).

Em relação às amostras da ETA-Bolonha, as análises mostraram uma relação positiva entre o VHA1 e o pH e negativa entre o VHA1 e cloro livre. A associação entre o vírus e o pH é controversa (PANCORBO et al., 1987), uma vez que, de um modo geral o VHA1 tem maior estabilidade em pH ácido o que divergiu do deste estudo.

Alguns estudos já demonstraram que o VHA1 necessita de altas concentrações de cloro para sua inativação, como mostram os resultados de Li et al, (2002), que avaliaram a viabilidade do VHA1 em diferentes níveis de cloro e o mesmo só foi inativado em concentrações acima de 10 mg/L durante 30 minutos, valor esse bem maior do que o preconizado pela legislação vigente no Brasil para tratamento de água potável, que estabelece um residual de cloro livre de 2 mg/L na saída da ETA. Os dados desde estudo mostraram uma associação negativa entre o cloro livre e o VHA1, o que corrobora o descrito na literatura, mesmo que não se tenha observado concentrações tão altas como a do estudo acima citado. Foi possível observar que o ano (2013) quando um maior

número de amostras foi positiva para VHA1 foi também aquele que apresentou as menores concentrações de cloro livre. E o ano onde foram observadas as maiores concentrações de cloro livre (2014) foi o que menos apresentou amostras positivas para o VHA1.

Em adição aos fatores acima mencionados, foram realizadas também genotipagem para identificação dos genótipos circulantes. As amostras positivas para VHA1 foram sequenciadas utilizando uma região parcial do genoma à junção VP1/2A para identificação dos genótipos circulantes, uma vez que esta região é aquela que apresenta maior variabilidade genética (VAUGHAN et al., 2014).

Atualmente são considerados seis genótipos que caracterizam o vírus. Os genótipos I, II e III estão associados às infecções humanas, possuindo ainda seis subgenótipos (IA, IB, IIA, IIB, IIIA e IIIB) e recentemente foi identificado o subgenótipo IC na Espanha sendo de origem alimentar, e os genótipos IV, V e VI sendo associados a primatas não humanos. O genótipo I é o mais prevalente no mundo, assim como genótipo IA é mais relatado em relação ao genótipo IB. Os genótipos do VHA1 apresentam mais de 85% de identidade no sequenciamento nucleotídico e os subgenótipos apresentam entre 7 e 7,5% de divergência nucleotídica entre si (NAINAN et al., 2006).

Neste estudo o genótipo predominante foi o genótipo I, demonstrando cocirculação dos genótipos IA e IB. O genótipo IB foi o mais frequente com 52% dos resultados, reforçando o que já foi encontrado em outros estudos como, por exemplo, Amado et al. (2011) e De Paula et al. (2004), em que o genótipo IB foi mais prevalente.

A identidade entre os isolados encontrados nas amostras de água coletadas apresentaram baixa diversidade genética entre os genótipos. Villar et al. (2006) encontraram percentual de 90,8% a 96,8% entre os isolados IA e 97,2% a 99,5% entre os o isolados IB. Esses achados corroboram com outros estudos, demonstrando que o genótipo I é o mais frequente no mundo e que no Brasil há circulação de ambos os genótipos (DE PAULA et al., 2002, 2006, DEVALLE et al., 2003, VILLAR et al., 2004, 2006).

Os resultados aqui apresentados apontam para a vulnerabilidade dos lagos que abastecem parte considerável da população de Belém com água potável, além de chamar atenção para possibilidade de contaminação da água tratada com vírus potencialmente patogênico. Por isso torna-se imprescindível o monitoramento da qualidade da água de abastecimento público, a fim de avaliar a eficiência dos atuais indicadores de contaminação da água, bem como avaliar se estes indicadores estão associados à persistência do VHA1 no ambiente. Os achados também configuram a deficiência do esgotamento sanitário que contribui para a disseminação de microrganismos patogênicos no ambiente aquático, sobretudo os vírus de veiculação hídrica como VHA1.

CONCLUSÃO

- Os resultados apontam para importante impacto ambiental no manancial do Utinga em Belém-PA;
- Evidenciou-se que o processo de degradação ambiental é maior no Lago Bolonha em relação ao Lago Água Preta, porém, ambos encontram-se bastante impactados;
- Evidenciou-se que o tratamento da água na ETA Bolonha é eficiente para inativação das bactérias do grupo coliforme, entretanto fragmentos do genoma do vírus da hepatite A foram detectados na água coletada na saída do tratamento ressaltando a necessidade de realização de novos estudos acerca da viabilidade das partículas virais neste ponto de amostragem;
- Observou-se a falta de correlação entre a concentração dos indicadores bacteriológicos e a presença do genoma do VHA1 na amostras de água coletadas;
- Observou-se associação negativa entre OD e o VHA1 nas águas superficiais dos Lagos e Associação positiva entre Cloro Livre e pH na ETA Bolonha;
- Evidenciou-se neste estudo a circulação predominante do genótipo I e subgenótipos IA e IB;
- Os resultados apontam para um possível problema de saúde pública que contribui para a manutenção da ocorrência de casos em Belém e parte da sua região metropolitana, bem como para a manutenção da endemicidade da Hepatite A na região, caso não haja intervenções urgentes das autoridades responsáveis;
- Os resultados deste estudo apontam para uma possível manutenção da ocorrência de casos de Hepatite A em Belém e parte da sua região metropolitana veiculada pelo sistema público de distribuição de água potável, uma vez que o VHA1 foi detectado em frequência considerável na saída da ETA Bolonha.

REFERÊNCIAS

ABAD, F. X.; PINTO, R. M.; VILHENA, C.; GAJARDO, R.; BOSCH, A. Astrovirus survival in drinking water. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 63, n. 8, p. 3119-3122, 1997.

ABBASZADEGAN, M. Advanced detection of viruses and protozoan parasites in water. **Rev. Biol. Biotech.**, v. 1, n. 2, p. 21-26, 2001.

ABBASZADEGAN, M.; HUBER, M. S.; GERBA, C. P.; PEPPER, I. L. Detection of enteroviruses in groundwater with the polymerase chain reaction. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 59, n. 5, p. 1318-1324, 1993.

ALBINANA-GIMENEZ, N.; MIAGOSTOVICH, M. P.; CALGUA, B.; HUGUET, J. M.; MATIA, L.; GIRONES, R. Analysis of adenoviruses and polyomaviruses quantified by qPCR as indicators of water quality in source and drinking water treatment plants. **Water Res.**, v. 43, n. 7, p. 2011-2019, 2009.

ALMEIDA, L. M.; AZEVEDO, R. S.; GUIMARAES, A. A.; COUTINHO, E.S.; STRUCHINER, C. J.; MASSAD, E. Detection of antibodies against hepatitis A virus in eluates of blood spotted on filter-paper: a pilot study in Rio de Janeiro, Brazil. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v. 93, n. 4, p. 401-404, 1999.

AMARAL, L. A.; NADER FILHO, A.; ROSSI JÚNIOR, O. D.; FERREIRA, F. L. A.; BARROS, L. S. S. Água de consumo humano como fator de risco à saúde em propriedades rurais. **Rev. Saúde Pública**, v. 37, n. 4, p. 510-514, 2003.

AMADO, L. A.; VILLAR, L. M.; PAULA, V. S.; PINTO, M. A.; GASPAR, A. M. C. Exposure to multiple subgenotypes of hepatitis A virus during an outbreak using matched serum and saliva specimens. **J. Med. Virol.**, v. 83, n. 5, p.768-775, 2011.

APHA. AWWA. WEF. **Standard Methods for the examination of water and wastewater**. 21. ed. Washington, 2005.

APPLETON, H. Control of food-borne viruses. **Br Med. Bull.**, v. 56, n. 1, p. 172-183, 2000.

ARAUZ-RUIZ, P.; SUNDQVIST, L.; GARCIA, Z.; TAYLOR, L.; VISONA, K.; NORDER, H.; MAGNIUS, L. O. Presumed common source outbreaks of hepatitis A in an endemic area confirmed by limited sequencing within the VP1 region. **J. Med. Virol.**, v. 65, n. 3, p. 449-456, 2001.

ARAÚJO JÚNIOR, A. C. R. Indicadores de qualidade ambiental no Lago Bolonha, Parque Estadual do Utinga, Belém-Pará. **Bol. Gaúcho de Geogr.**, v. 42, n. 1, p. 276-299, 2015.

ARNAL, C.; FERRÉ-AUBINEAU, V.; BESSE, B.; BILLAUDEL, S. Simplified reverse transcription polymerase chain reaction procedure with detection by microplate hybridization for routine screening of hepatitis A virus. **Can. J. Microbiol.**, v. 44, n. 3, p. 298-302, 1998.

ASHBOLT, N. J.; GRABOW, W. O. K.; SNOZZI, M. Indicators of microbial water quality. In: FEWTRELL, L.; BARTRAM, J. (Ed.). **Water Quality:** Guidelines, Standards and Health. London: WHO, 2001.

AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. S. **BioEstat 5.3**: aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Biológicas e Médicas. 5. ed. Belém: IDSM, 2007. 361 p.

BELÉM. Prefeitura Municipal. **Plano Municipal de Saneamento Básico de Abastecimento de Água e Esgotamento Sanitário de Belém – Pará**. Belém, 2014.

BELL, B. P.; FEINSTONE, S. M. Hepatitis A vaccine. In: PLOTKIN, S. A.; ORENSTEIN, W. A.; OFFIT, P. A. (Ed.). **Vaccine**. 4th ed. Philadelphia: Saunders, 2004. p. 269-297.

BITTON, G. **Wastewater microbiology**, 3rd ed. Hoboken: John Wiley, 2005.

BOEHM, A. B.; ASHBOLT, N. J.; COLFORD, J. M.; DUNBAR, L. E.; FLEMING, L. E.; GOLD, M. A.; HANSEL, J. A.; HUNTER, P. R.; ICHIDA, A. M.; MCGEE, C. D.; SOLLER, J. A.; WEISBERG, S. B. A sea change ahead for recreational water quality criteria. **J. Water Health**, v. 7, n. 1, p. 9-20, 2009.

BOUCHARD, D. C.; WILLIANS, M. K.; SURAMPALLI, R. Y. Nitrate contamination of ground water: sources and potential health effects. **J. Am. Water Works Ass.**, v. 84, n. 9, p. 85-90, 1992.

BORCHARDT, M. A.; BERTZ, P. D.; SPENCER, S. K.; BATTIGELLI, D. A. Incidence of enteric viruses in groundwater from household wells in Wisconsin. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 69, n. 2, p. 1172-1180, 2003.

BORCHARDT, M. A.; BRADBURY, K. R.; ALEXANDER, E.; KOLBERG, R. J.; ALEXANDER, S. C.; ARCHER, J. R.; BRAATZ, L. A.; FOREST, B. M.; GREEN, J. A.; SPENCER, S. K. Norovirus outbreak caused by a new septic system in a dolomite aquifer. **Ground Water**, v. 49, n. 1, p. 85-97, 2011.

BORCHARDT, M. A.; SPENCER, S. K.; KIEKE, B. A.; LAMBERTINI, E.; LOGE, F. J. Viruses in nondisinfected drinking water from municipal wells and community incidence of acute gastrointestinal illness. **Environ. Health Perspect.**, v. 120, n. 9, p. 1272-1279, 2012.

BORREGO, J. J. Coliphages as faecal pollution indicators. In: RANA, B.C. (Ed.). **Pollution and Biomonitoring**. New York: McGraw-Hill, 1995. p. 117-159.

BORREGO, J. J.; FIGUERAS, M. J. Microbiological quality of natural waters. **Microbiologia SEM**, v. 13, n. 4, p. 413-426, 1997.

BOSCH, A.; GONZALEZ-DANKAART, J. F.; HARO, I.; GAJARDO R; PEREZ, J. A.; PINTO, R. M**.** A new continuous epitope of hepatitis A virus. **J. Med. Virol.**, v. 54**,** p. 95-102, 1998.

BOSCH, A.; GUIX, S.; SANO, D.; PINTO, R. M. New tools for the study and direct surveillance of viral pathogens in water. **Curr. Opin. Biotec.**, v. 19, n. 3, p. 295-301, 2008.

BOSCH, A.; SÁNCHEZ, G.; ABBASZADEGAN, M.; CARDUCCI, A.; GUIX, S.; LE GUYADER, F. S.; NETSHIKWETA, R.; PINTÓ, R. M.; VAN DER, P. W. H. M.; RUTJES, S. Analytical methods for virus detection in water and food**. Food Anal. Methods**, v. 4, n. 1, p. 4-12, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Portaria n.º 2914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 12 dez. 2011. Seção 1, p. 39-46.

______. Ministério da Saúde. DATASUS. **Hepatites virais**. Disponível em: <http://dtr2004.saude.gov.br/sinanweb/tabnet/dh?sinannet/hepatitesvirais/bases/hepabrnet.def>. Acesso em: 15 jun. 2016.

______. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Boletim Epidemiológico – Hepatites Virais**, Brasília, v. 3, n. 1, 2012. 176 p.

______. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Vigilância ambiental em saúde**. Brasília: FUNASA, 2002.

______. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de saneamento**. 3. ed. rev. Brasília: Ministério da Saúde; FUNASA, 2006b.

______. Ministério de Meio Ambiente. **Mananciais**. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/cidades-sustentaveis/aguas-urbanas/mananciais>. Acesso em: 21 jul. 2015.

______. Resolução CONAMA 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação de corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 18 mar. 2005. Seção 1, p. 58-63.

______. Portal Brasil. **Saúde** – Vacina contra a hepatite A passa a ser oferecida pelo SUS. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/saude/2014/07/vacina-contra-hepatite-a-passa-a-ser-oferecida-pelo-sus>. Acesso em: 29 nov. 2015.

BROMAN, M.; JOKINEN, S.; KUUSI, M.; LAPPALAINEN, M.; ROIVAINEN, M.; LIITSOLA, K.; DAVIDKIN, I. Epidemiology of hepatitis A in Finland in 1990-2007. **J. Med. Virol.**, v. 82, n. 6, p. 934-941, 2010.

BROOKES, J. D.; HIPSEY, M. R.; BURCH, M. D.; REGEL, R. H.; LINDEN, L. G.; FERGUSON, C. M.; ANTENUCCI, J. P. Relative value of surrogate indicators for detecting pathogens in lakes and reservoirs. **Environ. Sci. Technol.**, v. 39, n. 32, p. 8614-8621, 2005.

BROOKS, H. A.; GERSBERG, R. M.; DHAR, A. K. Detection and quantification of hepatitis A virus in seawater via real-time RT-PCR. **J. Virol. Methods**., v. 127, n. 2, p. 109-118, 2005.

BYAPPANAHALLI M. N.; WHITMAN R. L.; SHIVELY D. A.; SADOWSKY M. J.; ISHII, S. Population structure, persistence, and seasonality of autochthonous *Escherichia coli* in temperate, coastal forest soil from a Great Lakes watershed. **Environ. Microbiol.**, v. 8, n. 3, p. 504-513, 2006.

CARDOSO, A. L. P.; TESSARI, E. N. C.; CASTRO, A. G. M.; KANASHIRO, A. M. I.; ZANATA, G. F. Incidência de coliforme e *Salmonella sp*. em águas provenientes de abatedouro avícola. **Hig. Aliment.**, v. 17, n. 111, p. 73-78, 2003.

CARTER, M. J. Enterically infecting viruses: pathogenicity, transmission and significance for food and waterborne infection. **J. Appl. Microbiol.** v. 98, n. 6, p. 1354-1380, 2005.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Viral HepatitisStatistics & Surveillance**. Disponível em: <http://www.cdc.gov/hepatitis/statistics/2013surveillance/index.htm#tabs-801939-9>. Acesso em: 03 nov. 2015.

CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Viral Hepatitis**. Disponível em: <http://www.cdc.gov/hepatitis/HAV/index.htm>. Acesso em: 03 nov. 2015.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL-CETESB. Qualidade das águas interiores no estado de São Paulo. In: _____. **Significado ambiental e sanitário das variáveis de qualidade das águas e dos sedimentos e metodologias analíticas e de amostragem**. São Paulo, 2009. (Série relatórios, apêndice A) p.19-20.

COMERLATO, J.; OLIVEIRA, L. K.; SPILKI, F. R. Enterovírus como indicadores de qualidade da água. **Rev. Bras. Bioc.**, v. 9, n. 1, p. 114 -125, 2011.

COSTA-MATTIOLI, M.; CRISTINA, J.; ROMERO, H.; PEREZ-BERCOFF, R.; CASANE, D.; COLINA, R.; GARCIA, L.; VEGA, I.; GLIKMAN, G.; ROMANOWSKY, V.; CASTELLO, A.; NICAND, E.; BASSIN, M.; BILLAUDEL, S.; FERRE, V. Molecular evolution of hepatitis A virus: a new classification based on the complete VP1 protein. **J. Virol.**, v. 76, n. 18, p. 9516-9525, 2002.

COSTA-MATTIOLI, M.; DI NAPOLI, A.; FERRE, V.; BILLAUDEL, S.; PEREZ-BERCOFF, R.; CRISTINA, E. J. Genetic variability of hepatitis A virus. **J. Gen. Virol.**, v. 84, n. 12, p. 3191-3201, 2003.

COSTA-MATTIOLI, M.; FERRE, V.; MONPOEHO, S.; GARCIA, L.; COLINA, R.; BILLAUDEL, S.; VEJA, I.; PEREZ-BERCOFF, R.; CRISTINA, J. Genetic variability of hepatitis A virus in South America reveals heterogeneity and co-circulation during epidemic outbreaks. **J. Gen. Virol.**, v. 82, pt. 11, p. 2647-2652, 2001.

COUDRAY-MEUNIER, C.; FRAISSE, A.; MOKHTARI, C.; MARTIN-LATIL, S.; ROQUE-AFONSO, A. M.; PERELLE, S. Hepatitis A virus subgenotyping based on RT-qPCR assays. **BMC Microbiol.**, v. 14, p. 296, 2014.

CRAUN, G. F.; BRUNKARD, J. M.; YODER, J. S.; ROBERTS, V. A.; CARPENTER, J.; WADE, T.; CALDERON, R. L.; ROBERTS, J. M.; BEACH, M. J.; ROY, S. L. Causes of outbreaks associated with drinking water in the United States from 1971 to 2006. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 23, n. 3, p. 507-528, 2010.

CUTHBERT, J. A. Hepatitis A: old and new. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 14, n. 1, p.38-58, 2001.

D'ANDREA, L.; PÉREZ-RODRÍGUEZ, F. J.; DE CASTELLARNAU, M.; MANZANARES, S.; LITE, J.; GUIX, S.; BOSCH, A.; PINTÓ, M. R. Hepatitis A virus genotype distribution during a decade of universal vaccination of preadolescents. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 16, n. 4, p. 6842-6854, 2015.

DE PAULA, V. S.; BAPTISTA, M. L.; LAMPE, E.; NIEL, C.; GASPAR, A. M. C. Characterization of hepatitis A virus isolates from subgenotypes IA and IB in Rio de Janeiro, Brazil. **J. Med. Virol.**, v. 66, n. 1, p. 22-27, 2002.

DE PAULA, V. S.; VILLAR, L. M.; GASPAR, A. M. C. Comparison of four extraction methods to detect hepatitis A virus RNA in serum and stool samples. **Braz. J. Infect. Dis.**, v. 7, n. 2, p. 135-141, 2003.

DE PAULA, V. S.; VILLAR, L. M.; MORAIS, L. M.; LEWIS-XIMENEZ, L. L.; NIEL, C.; GASPAR, A. M. C. Detection of hepatitis A virus RNA in serum during the window period of infection. **J. Clin. Virol.**, v. 29, n. 4, p. 254-259, 2004.

DE PAULA, V. S.; DINIZ-MENDES, L.; VILLAR, L. M.; LUZ, S. L. B.; SILVA, L. A.; JESUS, M. S.; SILVA, N. M. V. S.; GASPAR, A. M. C. Hepatitis A vírus in environmental water samples from the Amazon Basin. **Water Res.**, v. 41, n. 6, p. 1169-1176, 2007.

DE PAULA, V. S. Laboratory diagnosis of hepatitis A. **Future Virol.**, v. 7, n. 5, p. 461-472, 2012.

DESBOIS, D.; COUTURIER, E.; MACKIEWICZ, V.; GRAUBE, A.; LETORT, M. J.; DUSSAIX, E.; ROQUE-AFONSO, A. M. Epidemiology and genetic characterization of hepatitis A virus genotype IIA. **J. Clin. Microbiol.**, v. 48, n. 9, p. 3306-3315, 2010.

DESMARAIS, T. R.; SOLO-GABRIELE, H. M.; PALMER, C. J. Influence of soil on fecal indicator organisms in a tidally influenced subtropical environment. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 68, n. 3, p. 1165-1172, 2002.

DEVALLE, S.; DE PAULA, V. S.; OLIVEIRA, J. M.; NIEL, C.; GASPAR, A. M. C. Hepatitis A virus infection in hepatitis C Brazilian patients. **J. Infect.**, v. 47, n. 2, p. 125-128, 2003.

DIAZ, B. I.; SARIOL, C. A.; NORMANN, A.; RODRIGUEZ, L.; FLEHMIG, B. Genetic relatedness of Cuban HAV wild-type isolates. **J. Med. Virol.**, v. 64, n. 2, p. 96-103, 2001.

DOMINGUES, V. O.; TAVARES, G. D.; STÜKER, F.; MICHELOT, T. M.; REETZ, L. G. B.; BERTONCHELI, C. M.; HÖRNER, R. Contagem de bactérias heterotróficas na água para consumo humano: comparação entre duas metodologias. **Saúde, Santa Maria**, v. 33, n. 1, p. 15-19, 2007.

DOMÍNGUEZ, À.; BRUGUERA, M.; PLANS, P. Declining hepatitis A seroprevalence in adults in Catalonia (Spain): a population-based study. **BMC Infect. Dis.**, v. 4, n. 7, p. 73, 2007.

DURAN, A. E.; MUNIESA, M.; MOCE-LLIVINA, L.; CAMPOS, C.; JOFRE, J.; LUCENA, F. Usefulness of different groups of bacteriophages as model microorganisms for evaluating chlorination. **J. Appl. Microbiol.**, v. 95, n. 1, p. 29-37, 2003.

HAVELAAR, A. H.; HOGEBOOM, W. H. F-specific RNA-bacteriophages as model viruses in water hygiene: ecological aspects. **Water Sci. Technol.**, v. 20, n. 11-12, p. 399-407, 1988.

ELFORD, W. J. A new series of graded collodion membranes suitable for general bacteriological use, especially in virus studies. **J. Pathol. Bacteriol.**, v. 34, n. 4, p. 505-521, 1931.

ESPINOSA, A. C.; MAZARI-HIRIARTA, M.; ESPINOSA, R.; MARURI-AVIDAL, L.; MÉNDEZ, E.; ARIAS, C. F. Infectivity and genome persistence of rotavirus and astrovirus in groundwater and surface water. **Water Res.**, v. 42, n. 10-11, p. 2618- 2628, 2008.

ESPINOSA, A. C.; ARIAS, C. F.; SÁNCHEZ-COLÓN, S.; MAZARI-HIRIART, M. Comparative study of enteric viruses, coliphages and indicator bacteria for evaluating water quality in a tropical high-altitude system. **Environ. Health.**, v. 8, p. 49, 2009.

FEINSTONE, S. M.; KAPIKIAN, A. Z.; PURCELL, R. H. Hepatitis A: detection by immune electron microscopy a virus-like antigen associated with acute illness. **Science**, v. 182, n. 4116, p. 1026-1028, 1973.

FERGUSON, C. M.; COOTE, B. G.; ASHBOLT, N. J.; STEVENSON, I. M. Relationships between indicators, pathogens and water quality in na estuarine system. **Water Res.**, v. 30, n. 9, p. 2045-2054, 1996.

FERREIRA, C. T.; SILVEIRA, T. R. Hepatites virais: aspectos da epidemiologia e da prevenção. Rev. Bras. Epidemiol., v. 7, n. 4, p. 473-487, 2004.

FIGUERAS, M. J.; BORREGO, J. J. Review New Perspectives in Monitoring Drinking Water Microbial Quality. **J. Environ. Res. Public Health,** v. 7, n. 12, p. 4179-4202, 2010.

FIGUERAS, M. J.; ROBERTSON, W.; PIKE, E.; BORREGO, J. J. Sanitary inspection and microbiological water quality. In: BARTRAM, J.; REES, G. (Ed.). **Monitoring Bathing Waters:** A Practical Guide to the Design and Implementation of Assessments and Monitoring Programmes. London: E & FN Spon, 2000. p. 113-167,

FINKBEINER, S. R.; ALLRED, A. F.; TARR, P. I.; KLEIN, E. J.; KIRKWOOD, C. D.; WANG, D. Metagenomic analysis of human diarrhea: viral detection and discovery. **PLoS Pathog.**, v. 4, n. 2, p. 1-9, 2008.

FITZSIMONS, D.; HENDRICKX, G.; VORSTERS, A.; VAN DAMME, P. Hepatitis A and E: Update on prevention and epidemiology. **Vaccine,** v. 28, n. 3, p. 583-588, 2010.

FONG, T. T.; LIPP, E. K. Enteric viruses of humans and animals in aquatic environments: health risks, detection and potential water quality assessment tools. **Microbiol. Molec. Biol. Rev.**, v. 69, n. 2, p. 357-371, 2005.

FOUT, G. S.; MARTINSON, B. C.; MOYER, M. W.; DAHLING, D. R. A multiplex reverse transcription-PCR method for detection of human enteric viruses in groundwater. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 69, n. 6, p.3158-3164, 2003.

FUJIOKA, R. S.; SHIZUMURA, L. K. Clostridium perfringens, a reliable indicator of stream water quality. **J. Water Pollut. Control. Fed.**, v. 57, n. 10, p. 986-992, 1985.

FUMIAN, T. M.; VIEIRA, C. B.; LEITE, J. P. G.; MIAGOSTOVICH, M. P. Assessment of burden of virus agents in urban sewage treatment plant in Rio de Janeiro, Brazil. **J. Water Health.**, v. 11, n. 1, p.110-119, 2013.

GARDNER, P.; EICKHOFF, T.; POLÔNIA, G. A.; GROSS, P.; GRIFFIN, M.; LAFORCE, F. M.; SCHAFFNER, W.; STRIKAS, R. Adult Imunizations. **Ann. Inter. Med**., v. 124, n. 1, p. 35-40, 1996.

GIBSON, K. E. Viral pathogens in water: occurrence, public health impact, and available control strategies. **Curr. Opin. Virol.**, v. 4, p. 50-57, 2014.

GIBSON, K. E.; SCHWAB, K. J.; SPENCER, S. K.; BORCHARDT, M. A. Measuring and mitigating inhibition during quantitative real-time PCR analysis of viral nucleic acid extracts from large-volume environmental water samples. **Water Res.**, v. 46, n. 13, p. 4281-4291, 2012.

GONÇALVES, R. F. **Tecnologias de segregação e tratamento de esgotos domésticos na origem, visando à redução do consumo de água e da infraestrutura de coleta, especialmente nas periferias urbanas**. Vitória: RIMA, 2006.

GRABOW, W. O. K. Bacteriophages: Update on application as models for viruses in water. **Water SA**, v. 27, n. 2, p. 251-268, 2001.

GRABOW, W. O. K. Indicator systems for assessment of the virological safety of treated drinking water. **Water Sci. Technol.**, v. 18, n. 10, p. 159-165, 1986.

GRABOW, W. O. K.; TAYLOR, M. B.; DE VILLIERS, J. C. New methods for the detection of viruses: call for review of drinking water quality guidelines. **Water Sci. Technol.**, v. 43, n. 12, p. 1-8. 2001.

GREENBERG, A.; TARAS, A. M. J. (Ed.). **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewate**r. Washington, DC: American Public Health Association. 1981.

GRIFFIN, J. S.; PLUMMER, J. D.; LONG, S. C. Torque teno virus: an improved indicator for viral pathogens in drinking waters. **J. Virol.**, v. 5, n. 112, p. 1-6, 2008.

GRINDE, B.; STENE-JOHANSEN, K.; SHARMA, B.; HOEL, T.; JENSENIUS, M.; SKAUG, K. Characterisation of an epidemic of hepatitis A virus involving intravenous drug abusers: infection by needle sharing. **J. Med. Virol.**, v. 53, n. 1, p. 69-75, 1997.

GUPTA, V.; JOHNSON, W. P.; SHAFIEIAN, P.; RYU, H.; ALUM, A.; ABBASZADEGAN, M.; HUBBS, S.; RAUCH-WILLIAMS, T. Riverbank filtration: comparison of pilot scale transport with theory. **Environ. Sci. Technol.**, v. 43, n. 3, p. 669-676, 2009.

HAAS, C. N.; ROSE, J. B.; GERBA, C. P.; REGLI, R. Risk assessment of viruses in drinking water. **Risk Anal.**, v. 13, n. 5, p. 545-552, 1993.

HACH COMPANY. **Procedures Manual - Spctrophotometer DR-2800**. Germany. 2007.

HADLER, S. C.; WEBSTER, H. M.; ERBEN J. J.; SWANSON J. E.; MAYNARD. J. E. Hepatitis A in day-care centers: a community-wide assessment. **N. Engl. J. Med.**, v. 302**, n. 22, p.** 1222-1227, 1980.

HAGENS, S.; OFFERHAUS, M. L. Bacteriophages – ew weapons for food safety. **Food Technol.**, v. 62, n. 4, p. 46-54, 2008.

HAMZA, I. A.; JURZIK, L.; STANG, A.; SURE, K.; UBERLA, K.; WILHELM, M. Detection of human viruses in rivers of a densely-populated area in Germany using a virus adsorption elution method optimized for PCR analyses. **Water Res.**, v. 43, n. 10, p. 2657-2668, 2009.

HAMZA, I. A.; JURZIK, L.; UBERLA, K.; WILHELM, M. Evaluation of pepper mild mottle virus, human picobirnavirus and Torque teno virus as indicators of fecal contamination in river water. **Water Res**., v. 45, n. 3, p. 1358-1368, 2011.

HAZEN, T. C.; TORANZOS, G. A. Tropical source water. In: MCFETERS, G. A. (Ed.). **Drinking Water Microbiology**. New York: Springer-Verlag, 1990. p. 32-54.

HEALTH CANADA. **Guidelines for Canadian Drinking Water Quality**—Summary Table. Ottawa, Ontario: Water and Air Quality Bureau, Healthy Environments and Consumer Safety Branch, Health Canada, 2014.

HENNING, K. J.; ELEANOR BELL, R. N.; JAMES BRAUN, D. O.; NANCY, D.; BARKER, M. S. A community-wide outbreak of hepatitis A: Risk factors for infection among homosexual and bisexual men. **Am. J. Med.**, v. 99, n. 2, p. 132-136, 1995.

HERNANDEZ-MORGA, J; LEON-FELIX, J.; PERAZA-GARAY, F.; CHAIDEZ, C. Detection and characterization of hepatitis A virus and Norovirus in estuarine water samples using ultrafiltration--RT-PCR integrated methods. **J. Appl. Microbiol.**, v. 106, n. 5, p. 1579-90, 2009.

HILL, V. R.; POLACZYK, A. L.; KAHLER, A. M.; CROMEANS, T. L.; HAHN, D.; AMBURGEY, J. E. Comparison of hollow-fiber ultrafiltration to the USEPA VIRADEL Technique and USEPA Method 1623. **J. Environ. Qual.**, v. 38, n, 2, p.822-825, 2009.

HIRATA, T.; KAWAMURA, K.; YANO, K.; KANEKO, M.; MONIWA, T.; TOSA, K.; TAGUCHI, K. Removal efficiencies of microorganisms in waste-water treatment processes. **Water Scien. Technol.**, v. 28, n. 7, p. 55-61, 1993.

HOLLINGER, F. B.; EMERSON, E. S. U. Hepatitis A virus. In: KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. (Ed.). **Fields virology**. 4th ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2001. p. 799-840.

HOLLINGER, F. B.; EICKHOFF, T.; GERSHON, A.; JONG, E. C.; KOFF, R. S.; ANDRE, F. E.; MARCUS, L. C.; MELNICK, J. L.; KRUGMAN, S.; WOLFE, M. S.; STEFFEN, R.; GREENBAUM J. J.; STAPLETON, J. T.; KRAUSE, D. S.; CLEMENS, R. Discussion - who should receive hepatitis-a vaccine - a strategy for controlling hepatitis-a in the united-states. **J. Infect. Dis.**, v. 171, suppl. 1, p. 73-77, 1995.

HOLLINGER, F. B.; TICEHURST. Hepatitis A Virus. In: FIELDS, B. N.; KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M.; CHANOCK, R. M.; MELNICK, J. L.; MONATH, T. P.; ROIZMAN, B.; STRAUS, S. E. (Ed.). **Fields Virology**. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1986. v. 1, p. 735-782.

HOT, D.; LEGEAY, O.; JACQUES, J.; GANTZER, C.; CAUDRELIER, Y.; GUYARD, K.; LANGE, M.; ANDREOLETTI, L. Detection of somatic phages, infectious enteroviruses and enterovirus genomes as indicators of human enteric viral pollution in surface waters. **Water Res.**, v. 37, n. 19, p. 4703-4710, 2003.

HURST, C. J.; BENTON, W. H.; MCCLELLAN, A. Thermal and water source effects upon the stability of enteroviruses in surface freshwaters. Can. **J. Microbiol**., v. 35, n. 4, p. 474-480, 1989.

ICTV. International Commite on Taxonomy of Viruses. **Virus Taxonomny**: 2015 Release. Disponível em: <http://www.ictvonline.org/index.asp>. Acesso em: 15 jul. 2014.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Estimativas de população**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/estimativa2014/default.shtm>. Acesso em: 22 out. 2014.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. **BDMEP, 2014**. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/projetos/rede/pesquisa/mapas_mensal_sem.php>. Acesso em: 28 jan. 2015.

IRGANG, B. E.; GASTAL JR., C. V. S. **Macrófitas aquáticas da planície costeira do RS**. Porto Alegre: UFRGS, 1996.

JACOBSEN, K. H.; KOOPMAN, J. S. The effects of socioeconomic development on worldwide hepatitis A virus seroprevalence patterns. **Int. J. Epidemiol.**, v. 34, n. 3, p. 600-609, 2005.

JIANG, S. C.; CHU, W.; HE, J. Seasonal detection of human viroses and coliphage in Newport Bay, California. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 73, n. 20, p. 6468-6474, 2007.

JOSHI, M. S.; CHITAMBAR, S. D.; ARANKALLE, V. A.; CHADHA, M. S. Evaluation of urine as a clinical specimen for diagnosis of hepatitis A. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, v. 9, n. 4, p. 840-845, 2002.

JURZIK, L.; HAMZAA, I. A.; PUCHER, W.; ÜBERLA, K.; WILHELM, M. Chemical and microbiological parameters as possible indicators for human enteric viruses in surface water. **Int. J. Hyg. Environ. Health**, v. 213, n. 3, p. 210-216, 2010.

KARAGANIS, J. V.; LARKING, E. P.; MELNICK, J. L.; SCARPINO, P. V.; SCHAUB, S. A.; SORBER, C. A. **Research priorities for monitoring viruses in the environment**. EPA/600/9-83/010. Washington, D.C: Environmental Protection Agency, 1983.

KATAYAMA, H.; SHIMASAKI, A.; OHGAKI, S. Development of a virus concentration method and its application to detection of enterovirus and norwalk virus from coastal seawater. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 68, n. 3, p.1033-1039, 2002.

KATOH, K.; TOH, H. Parallelization of the MAFFT multiple sequence alignment program. **Bioinformatics,** v. 26, n. 15, p. 1899-1900, 2010.

KATZ, M. H.; HSU, L.; WONG, E.; LISKA, S.; ANDERSON, L.; JANSSEN, R. S.; Seroprevalence of and risk factors for hepatitis A infection among young homosexual and bisexual men. **J. Infect. Dis.**, v. 175, n. 5, p. 1225-1229, 1997.

KEMMER, N. M.; MISKOVSKY, E. P. Hepatitis A. **Infect. Dis. Clin. North Am.**, v. 14, n. 3, p. 605-615, 2000.

KO, G.; JOTHIKUMAR, N.; HILL, V. R.; SOBSEY, M. D. Rapid detection of infectious adenoviruses by mRNA real-time RT-PCR. **J. Virol. Methods.**, v. 127, n. 2, p.148-153, 2005.

KOFF, R. S. Clinical manifestations and diagnosis of hepatitis A virus infection. **Vaccine**, v. 10, suppl. 1, p. S15-S17, 1992.

KOFF, R. S. Hepatitis A. **Lancet**, v. 351, n. 9116, p. 1643-1649, 1998.

KOTT, Y. Viruses and bacteriophages. **Sci. Total Environ.**, v.18, p.13-23, 1981.

LAMBERTINI, E.; SPENCER, S. K.; KIEKE, B. A.; LOGE, F. J.; BORCHARDT, M. A. Virus contamination from operation and maintenance events in small drinking water distribution systems**. J. Water Health**, v. 9, n. 4, p. 799-812, 2011.

LAUFER, D. S.; HURNI, W.; WATSON, B.; MILLER, W.; RYAN, J.; NALIN, D.; BROWN, L. Saliva and serum as diagnostic media for antibody to hepatitis A virus in adults and in individuals who VHA 1and received an inactivated hepatitis A vaccine. **Clin. Infect. Dis.**, v. 20, n. 4, p. 868-871, 1995.

LE BARON, C. W.; FURUTAN, N. P.; LEW, J. F. Viral agents of gastroenteritis: public health importance and outbreak management. **MMWR. Recomm. Rep.**, v. 39, n. (RR-5), p. 1-24, 1990.

LEE, H. K.; JEONG Y. S. Comparison of Total Culturable Virus Assay and Multiplex Integrated Cell Culture-PCR for Reliability of Waterborne Virus Detection. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 70, n. 6, p. 3632-3636, 2004.

LEE, S.; KIM, S. Detection of infectious enteroviruses and adenoviruses in tap water in urban areas in Korea. **Water Res.**, v. 36, n. 1, p. 248-256, 2002.

LEE, S. G.; JHEONG, W. H.; SUH, C. I.; KIM S. H.; LEE, J. B.; JEONG, Y. S.; KO, G.; JANG, K. L.; LEE, G. C.; PAIK, S. Y. Nationwide groundwater surveillance of noroviruses in South Korea, 2008. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 77, n. 4, p. 1466-1474, 2011.

LEITÃO JUNIOR, A. M.; SOARES, D. Z.; GUIMARÃES, A. A; BIANCHI, J. L.; REZENDE, L. D.; OLIVEIRA, G. M. Sistema de tratamento alternativo de efluentes utilizando macrófitas aquáticas: um estudo de caso do tratamento de efluentes frigoríficos por Pistia stratiotes e Eichhornia crassipes. Caminhos de Geografia, v. 8, n. 3, p. 8-19, 2007.

LI, J. W.; XIN, Z. T.; WANG, X. W.; ZHENG, J. L.; CHAO, F. H. Mechanisms of Inactivation of Hepatitis A Virus by Chlorine. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 68, n. 10, p. 4951-4955, 2002.

LIN, J.; GANESH, A. Water quality indicators: bacteria, coliphages, enteric viroses. **Int. J. Environ. Health Res.**, v. 23, n. 6, p. 484-506, 2013.

LIPP, E. K.; KURZ, R.; VINCENT, R.; RODRIGUEZ-PALACIOS, C.; FARRAH, S. R.; ROSE, J. B. The effects of seasonal variability and weather on microbial fecal pollution and enteric pathogens in a subtropical estuary. **Estuaries**, v. 24, n. 2, p. 266-276, 2001.

LOCARNINI, S. A.; COULEPIS, A. G.; FERRIS, A. A.; LEHMANN, N. I.; GUST, D. Purification of hepatitis A virus from human feces. **Intervirology**, v. 10, n. 5, p. 300-308, 1978.

LUZ, R. B.; KLUGE, M.; FABRES, R. B.; FONTANA, T.; PACHECO, A.; STAGGEMAIER, R.; RODRIGUES, M. T.; FLECK, J. D.; SPILKI, F. R. Presença de partículas virais infecciosas em amostras de água de diferentes tipos e localidades do Rio Grande do Sul, Brasil. **R. Bras. Bioci.**, v. 10, n. 1, 2012.

MACKIEWICZ, V.; E. DUSSAIX, M. F.; LE PETITCORPS, E.; ROQUE-AFONSO, M. Detection of hepatitis A virus RNA in saliva. **J. Clin. Microbiol.**, v. 42, n. 9, p. 4329-4331, 2004.

MARGOLIS, H. S. Viral hepatitis. In: Wallace, R. B.; Doebbeling, B. N. (ed.). **Maxey-Rosenau-Last Public Health and Preventive Medicine**. 14th ed. Stamford: Appleton & Lange, 2000. p. 174-188.

MARTIN, A.; LEMON, S. M. Hepatitis A Virus: From Discovery to Vaccines. **Hepatology**, v. 43, Suppl. 1, p. 164-172, 2006.

MATHENY, S. C; KINGERY, J. E. Hepatitis A. **Am. Fam. Physician.**, v. 86, n. 11, p. 1027-34, 2012.

MATTISON, K.; BIDAWID, S. Analytical methods for food and environmental viruses. **Food Environ. Virol.**, v. 1, n. 3, p. 107-122, 2009.

MBITHI, J. N.; SPRINGTHORPE, S.; BOULET, J. R.; SATTAR, S. A. Survival of hepatitis A virus on human hands and its transfer on contact with animate and inanimate surfaces. **J. Clin. Microbiol.**, v. 30, n. 4, p. 757-763, 1992.

MBITHI, J. N.; SPRINGTHORPE, V. S.; SATTAR, S. A. Effect of relative humidity and air temperature on survival of hepatitis A virus on environmental surfaces. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 57, n. 5, p. 1394-1399, 1991.

MCCAUSTLAND, K. A.; BOND, W. W.; BRADLEY, D. W.; EBERT, J. W.; MAYNARD, J. E. Survival of hepatitis A in feces after drying and storage for one month. **J. Clin. Microbiol.**, v. 16, n. 5, p. 957-958, 1982.

MELNICK, J. L. Properties and classification of hepatitis A virus. **Vaccine**, v. 10, suppl. 1, p. 24-26, 1992.

MIAGOSTOVICH, M. P.; FERREIRA, F. F. M.; GUIMARÃES, F. R.; FUMIAN, T. M.; DINIZ-MENDES, L.; LUZ, S. L. B.; SILVA, L. A.; LEITE, J. P. G. Molecular Detection and Characterization of Gastroenteritis Viruses Occurring Naturally in the Stream Waters of Manaus, Central Amazônia, Brazil. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 74, n. 2, p. 375-382, 2008.

MOHD HANAFIAH, K.; JACOBSEN, K. H.; WIERSMA, S. T. Challenges to mapping the health risk of hepatitis A virus infection. **Int. J. Health Geogr.**, v. 10, n. 57, p. 2-8, 2011.

MORIÑIGO, M. A.; WHEELER, D.; BERRY, C.; JONES, C.; MUÑOZ, M. A.; CORNAX, R.; BORREGO, J. J. Evaluation of different bacteriophage groups as faecal indicators in contaminated natural waters in Southern England. **Water Res.**, v. 26, n. 3, p. 267-271, 1992.

NAINAN, O. V.; XIA. G.; VAUGHAN, G.; MARGOLIS, H. S. Diagnosis of hepatitis a virus infection: a molecular approach. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 19, n. 1, p. 63-79, 2006.

NOBLE, R. T.; ALLEN, S. M.; BLACKWOOD, A. D.; CHU, W.; JIANG, S. C.; LOVELACE, G. L.; SOBSEY, M. D.; STEWART, J. R.; WAIT, D. A. Use of viral pathogens and indicators to differentiate between human and non-human fecal contamination in a microbial source tracking comparison study. **J. Water Health.**, v. 1, n. 4, p. 195-207, 2003.

NOGUEIRA, G.; NAKAMURA, C. V.; TOGNIM, M. C. B.; ABREU FILHO, B. A.; DIAS FILHO, B. P. Qualidade microbiológica da água potável de comunidades urbanas e rurais, Paraná. **Rev. Saúde Pública**, v. 37, n. 2, p. 232-236, 2003.

NYLANDER, J. A. A. **MrModeltest v2**. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre Uppsala University, 2004. v. 2, p. 1-2.

OBA, I. T.; SPINA, A. M.; SARACENI, C. P.; LEMOS, M. F.; SENHORAS, R.; MOREIRA, R. C.; GRANATO, C. F. Detection of hepatitis A antibodies by ELISA using saliva as clinical samples. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 42, n. 4, p. 197-200, 2000.

PANCORBO, O. C.; EVANSHEN, B. G.; CAMPBELL, W. F.; LAMBERT, S.; CURTIS, S.; WOOLLEY, T. Infectivity and antigenicity reduction rates of human rotavirus strain Wa in fresh waters. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 53, n. 8, p. 1803-1811, 1987.

PARÁ. Secretaria de Estado de Meio Ambiente. **Revisão do Plano de Manejo do Parque Estadual do Utinga**. Belém: Belém: SEMA; IMAZON, 2013. 376 p.

PARK, G. W.; LINDEN, K. G.; SOBSEY, M. D. Inactivation of murine norovirus, feline calicivirus and echovirus 12 as surrogates for human norovirus (NoV) and coliphage (Fþ) MS2 by ultraviolet light (254 nm) and the effect of cell association on UV inactivation. **Lett. Appl. Microbiol.**, v. 52, n. 2, p. 162-167, 2011.

PAYMENT, P. Fate of human enteric viruses, coliphages and clostridium perfringens during drinking-water treatment. **Can. J. Microbiol.**, v. 37, n. 1, p. 154-157, 1991.

PAYMENT, P.; BERTE, A.; PREVOST, M.; MENARD, B.; BARBEAU, B. Occurrence of pathogenic microorganisms in the Saint Lawrence River (Canada) and comparison of health risks for populations using it as their source of drinking water. **Can. J. Microbiol.**, v. 46, n. 6, p. 565-576, 2000.

PEREIRA, F. E. L.; GONÇALVES, C. S. Hepatite A. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 36, n. 3, p. 387-400, 2003.

PEREZ-SAUTU, U.; COSTAFREDA, M. I.; LITE, J.; SALA, R.; BARRABEIG, I.; BOSCH, A.; PINTO, R. M. Molecular epidemiology of hepatitis A virus infections in Catalonia, Spain, 2005-2009: circulation of newly emerging strains. **J. Clin. Virol.**, v. 52, n. 2, p. 98-102, 2011.

PRADO, T.; SILVA, D. M.; GUILAYN, W. C.; ROSE, T. L.; GASPAR, A. M.; MIAGOSTOVICH, M. P. Quantification and molecular characterization of enteric viruses detected in effluents from two hospital wastewater treatment plants. **Water Res.**, v. 45, n. 3, p. 1287-1297, 2011.

RAMBAUT, A. **FigTree, a graphical viewer of phylogenetic trees**. Institute of Evolutionary Biology University of Edinburgh, 2009. Disponível em: <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>. Acesso em: 05 mar. 2016.

RAMBAUT, A.; DRUMMOND, A. J. **Tracer V1.6**. 2014. Disponível em: <http://beast.bio.ed.ac.uk/software/tracer/>. Acesso em: 16 jul. 2014.

REYNOLDS, K. A. Groundwater vulnerability to microbial contamination. **Water Condition Purif.**, v. 56, p. 28-30, 2004.

RIGOTTO, C.; SINCERO, T. C. M.; SIMÕES, C. M. O.; BARARDI, C. R. M. Detection of adenoviruses in shellfish by means of conventional- PCR, nested-PCR, and integrated cell culture PCR (ICC/PCR). **Water Res.**, v. 39, n. 2-3, p. 297-304, 2005.

RIGOTTO, C.; VICTORIA, M.; MORESCO, V.; KOLESNIKOVAS, C. K.; CORRÊA, A. A.; SOUZA, D. S. M.; MIAGOSTOVICH, M. P.; SIMÕES, C. M. O.; BARARDI, C. R. M. Assessment of adenovirus, hepatitis A virus and rotavirus presence in environmental samples in Florianopolis, South Brazil. **J. Appl. Microbiol.**, v. 109, n. 6, p. 1979-1987, 2010.

ROBERTSON, B. H.; AVERHOFF, F.; CROMEANS, T. L.; HAN, X.; KHOPRASER, T. B.; NAINAN, O. V.; ROSENBERG, J.; PAIKOFF, L.; DEBESS, E.; SHAPIRO, C. N.; MARGOLIS, S. H. Genetic relatedness of hepatitis A virus isolated during a community-wide outbreak. **J. Med. Virol.**, v. 62, n. 2, p. 144-150, 2000.

ROBERTSON, B. H.; JANSEN, R. W.; KHANNA, B.; TOTSUKA, A.; NAINAN, O. V.; SIEGL, G.; WIDELL, A.; MARGOLIS, H. S.; ISOMURA, S.; ITO, K.; ISHIZU, T.; MORITSUGU, Y.; LEMON, S. M. Genetic relatedness of hepatitis A virus strains recovered from different geographical regions. **J. Gen. Virol.**, v. 73, p. 1365-1377, 1992.

RODRIGUEZ, R. A.; PEPPER, I. L.; GERBA, C. P. Application of PCR-based methods to assess the infectivity of enteric viruses in environmental samples. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 75, n. 2, p. 297-307, 2009.

RODRIGUEZ, L. L. A.; LARRALDE, D. O.; MARTÍNEZ, C. R.; GUTIÉRREZ, M. A. Anti-Hepatitis A Virus Immunoglobulin M Antibodies in Urine Samples for Rapid Diagnosis of Outbreaks. **Clin. Diagn. Lab. Immunol.**, v. 10, n. 3, p. 492-494, 2003.

ROSARIO, K.; NILSSON, C.; LIM, Y. W.; RUAN, Y.; BREITBART, M. Metagenomic analysis of viruses in reclaimed water. **Environ Microbiol.**, v. 11, n. 11, p. 2806-2820, 2009.

RZEZUTKA, A.; COOK, N. Survival of human enteric viruses in the environment and food. **FEMS Microbiol. Rev.**, v. 28, n. 4, p. 441-453, 2004.

SANO, D.; PINTÓ, R. M.; OMURA, T.; BOSCH, A. Detection of Oxidative Damages on Viral Capsid Protein for Evaluating Structural Integrity and Infectivity of Human Norovirus. **Environ. Sci.Technol.**, v. 44, n. 2, p. 808-812, 2010

SANTOS, M. V.; LOPES, M. H. Vacina inativada contra a hepatite a: revisão da literatura e considerações sobre seu uso. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 30, n. 2, p. 145-157, 1997.

SCHWAB, K. J.; DE LEON, R.; SOBSEY, M. D. Concentration and purification of simulated meat extract eluates from water samples for the detection of enteroviruses, hepatitis A virus, and Norwalk virus by reverse transcription-PCR. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 61, n. 2, p. 531-537, 1995.

SELANDER, B.; BLACKBERG, J.; WIDELL, A.; JOHANSSON, P.J. No evidence of intrauterine transmission of hepatitis A virus from a mother to a premature infant. **Acta Paediatr.**, v. 98, n. 10, p. 1603-1606, 2009.

SHAO, Z. J.; XU, D. Z.; YAN, Y. P.; LI, J. H.; ZHANG, J. X.; ZHANG, Z. Y.; PAN, B. R. Detection of anti-VHA 1antibody with dot immunogold filtration assay. **World J. Gastroenterol.**, v. 9, n. 7, p. 1508-1511, 2003.

SHAPIRO, C. N.; MARGOLIS, H. S. Global epidemiology of infection. **J. Hepatol.**, v. 18, suppl 2, p. 11-14, 1993.

SIDHU J. P., Hanna J.; TOZE, S. G. Survival of enteric microorganisms on grass surfaces irrigated with treated effluent. **J. Water Health**, V. 6, n. 2, p. 255-262, 2008.

SIEGL, G. Structure and biology of hepatitis A virus. In: SZMUNESS, H. A. J. M. (Ed.). **Viral hepatitis**. Philadelphia: Franklin Institute Press, 1982. p. 13-20.

SILVA, N.; CANTÚSIO NETO, R.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. **Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Água**. São Paulo: Varela, 2005.

SIQUEIRA, G. W.; APRILE, F. Avaliação de risco ambiental ou contaminação metálica e material orgânico em sedimentos da bacia do Rio Aurá, Região Metropolitana de Belém-PA. **Rev. Acta Amaz.**, v. 43, n. 1, p. 51-62, 2013.

SOBSEY, M. D.; SHIELDS, P. A.; HAUCHMAN, F. S.; DAVIS, A. L.; RULLMAN, V. A.; BOSCH, A. Survival and persistence of hepatitis A virus in environmental samples. In: ZUCKERMAN, A. J. (Ed.). **Viral Hepatitis and Liver Disease**. New York: Alan R Liss Inc, 1988. p. 121-124.

SODRÉ, S. S. V. **Hidroquímica dos lagos Bolonha e Água Preta, mananciais de Belém-Pará**. 2007.115f. Dissertação (Mestrado em Ciências Ambientais) – Universidade Federal do Pará, Belém, 2007.

STAES, C. J.; SCHLENKER, T. L.; RISK, I.; CANNON, K. G.; HARRIS, H.; PAVIA, A. T.; SHAPIRO, C. N.; BELL, B. P. Sources of infection among persons with acute hepatitis A and no identified risk factors during a sustained community-wide outbreak. **Pediatrics**, v. 106, n. 4, p.1-7, 2000.

STAPLETON, J. T.; LEMON, S. M. Neutralization escape mutants define a dominant immunogenic neutralization site on hepatitis A virus. **J. Virol.**, v. 61, n. 2, p. 491-498, 1987.

STAPLETON, J. T.; LANGE, D. K.; LEDUC, J. W.; BINN, L. N.; JANSEN, R. W.; LEMON, S. M. The role of secretory immunity in hepatitis A virus infection. **J. Infect. Dis.**, v. 163, n. 1, p. 7-11, 1991.

STRAUB, T. M.; CHANDLER, D. P. Towards a unified system for detecting waterborne pathogens. J. Microbiol. Methods., v. 53, n. 2, p.185-197, 2003.

SULBARAN, Y.; GUTIERREZ, C. R.; MARQUEZ, B.; ROJAS, D.; SANCHEZ, D.; NAVAS, J.; ROVALLO, E.; PUJOL, F. H. Hepatitis A virus genetic diversity in Venezuela: exclusive circulation of subgenotype IA and evidence of quasispecies distribution in the isolates. J. Med. Virol., v. 82, n. 11, p. 1829-34, 2010.

SUTMOLLER, F.; AZEREDO, R. S.; LACERDA, M. D.; BARTH, O. M.; PEREIRA, H. G.; HOFFER, E.; SCHATZMAYR, H. G. An outbreak of gastroenteritis caused by both rotavirus and Shigella sonnei in a private school in Rio de Janeiro. **J. Hyg.**, v. 88, n. 2, p. 285-293, 1982.

SWOFFORD, D. L. **PAUP***: phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), version 4.0b10. Sunderland, MA: Sinauer, 2003. 21 Libro, p. 11.

TAHAEI, S. M.; MOHEBBI, S. R.; ZALI, M. R. Enteric hepatitis viroses. **Gastroenterol. Hepatol. Bed. Bench.**, v. 5, n. 1, p. 7-15, 2012.

TANI, N.; DOHI, Y.; JURUMATANI, N.; YONEMASU, K. Seasonal distribution of adenoviruses, enteroviruses and reoviruses in urban river water. **Microbiol. Immunol.**, v. 39**, n. 8, p.** 577-580, 1995.

TAVARES, T. M.; CARDOSO, D. D. P.; BRITO, W. M. E. D. Vírus entéricos veiculados por água: aspectos microbiológicos e de controle de qualidade da água. **Rev. Patol. Trop.**, v. 34, n. 2, p. 85-104, 2005.

TEIXEIRA, L. C. G. M. **Análise de ciclo de vida aplicada ao gerenciamento de resíduos**: o caso da ETA – RMB. 2003. 340 f. Tese (Doutorado em Desenvolvimento Sustentável do Trópico Úmido) – Núcleo de Altos Estudos Amazônicos, Universidade Federal do Pará, Belém, 2003.

TEUNIS, P. F. M.; MOE, C. L.; LIU, P.; MILLER, S. E.; LINDESMITH, L.; BARIC, R. S.; LE PENDU, J.; CALDERON, R. L. Norwalk virus: how infectious is it? **J. Med. Virol.**, v. 80, n. 8, p. 1468-1476, 2008.

TONG, M. J.; EL-FARRA, N. S.; GREW, M. I. Clinical manifestations of hepatitis A: recent experience in a community teaching hospital. **J. Infect. Dis.**, v. 171, suppl. 1, p. S15-S18, 1995.

TORANZOS, G. A.; MCFETERS, G. A.; BORREGO, J. J.; SAVILL, M. Detection of microorganisms in environmental freshwaters and drinking waters. In: HURST, C. J.; CRAWFORD, R. L.; GARLAND, J. L.; LIPSON, D. A.; MILLS, A. L.; STETZENBACH, L. D. (Ed.). **Manual of Environmental Microbiology**. 3rd ed. Washington, DC.: American Society for Microbiology Press, 2007. p. 249-264.

VASCONCELOS, V. M. M.; SOUZA, C. F. Caracterização dos parâmetros de qualidade da água do manancial Utinga, Belém, PA, Brasil. Rev. Ambi-Agua., v. 6, n. 2, p. 305-324, 2011.

VAUGHAN, G.; GONÇALVES ROSSI, L. M.; FORBI, J. C.; DE PAULA, V. S.; PURDY, M. A.; XIA, G.; KHUDYAKOV, Y. E. Hepatitis A virus: host interactions, molecular epidemiology and evolution. Infect. Genet. Evol., v. 21, p. 227-243, 2014.

VER, B. A.; MELNICK, J. L.; WALLIS, C. Efficient filtration and sizing of viruses with membrane filters. **J. Virol.**, v. 2, n. 1, p. 21-25, 1968.

VIAU, E. J.; LEE, D.; BOEHM, A. B. Swimmer risk of gastrointestinal illness from exposure to tropical coastal waters impacted by terrestrial dry-weather runoff. **Environ. Sci. Technol.**, v. 45, n. 17, p. 7158-7165, 2011.

VIEIRA, R. H. S. F.; OLIVEIRA, R. A. Avaliação do grau de contaminação fecal da água e do camarão sossego (Macrobrachium jelskii), na Lagoa Parangaba (Fortaleza, Ceará). **Hig. Alim.**, v. 15, n. 85, p. 61-64, 2001.

VIEIRA, C. B.; MENDES, A. C. O.; OLIVEIRA, J. M.; GASPAR, A. M. C.; LEITE, J. P. G.; MIAGOSTOVICH, M. P. Vírus Entéricos na Lagoa Rodrigo de Freitas. **Oecol. Aust.**, v. 16, n. 3, p. 540-565, 2012.

VIERHEILIG, J.; FRICK, C.; MAYER, R. E.; KIRSCHNER, A. K. T.; REISCHER, G. H; DERX, J.; MACH, R. L.; SOMMER, R.; FARNLEITNERB, A. H. Clostridium perfringens Is Not Suitable for the Indication of Fecal Pollution from Ruminant Wildlife but Is Associated with Excreta from Nonherbivorous Animals and Human Sewage. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 79, n. 16, p. 5089-5092, 2013.

VIGNAROLI, C. Epidemic *Escherichia coli* ST131 and *Enterococcus faecium* ST17 in coastal marine sediments from an Italian beach. **Environ. Sci. Technol.**, v. 47, n. 23, p. 13772-13780, 2013.

VILLAR, L. M.; MORAIS, L. M.; ALOISE, R.; MELO, M. M. M.; CALADO, I. A.; LAMPE, E.; GASPAR, A. M. C. Co-circulation of genotypes IA and IB of hepatitis A virus in Northeast Brazil. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 39, n. 7, p. 873 - 881, 2006.

VILLAR, L. M.; DE PAULA, V. S.; DINIZ-MENDES, L.; GUIMARÃES, F. R.; FERREIRA, F. F. M.; SHUBO, T. C.; MIAGOSTOVICH, M. P.; LAMPE, E.; GASPAR, A. M. C. Molecular detection of hepatitis A virus in urban sewage in Rio de Janeiro, Brazil. **Appl. Microbiol.**, v. 45, n. 2, p. 168-173, 2007.

VILLAR, L. M.; LAMPE, E.; MEYER, A.; GASPAR, A. M. C. Genetic variability of hepatitis A virus isolates in Rio de Janeiro: implications for the vaccination of school children. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 37, n. 12, p. 1779-1787, 2004.

VILLAR, L. M.; DE PAULA, V. S.; GASPAR, A. M. C. Seasonal variation of hepatitis A virus infection in the city of Rio de Janeiro, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. de São Paulo**, v. 44, n. 5, p. 289-292, 2002.

WARD, R. L.; BERNSTEIN, D. I.; YOUNG, E. C.; SHERWOOD, J. R.; KNOWLTON, D. R.; SCHIFF, G. M. Human rotavirus studies in volunteers: determination of infectious dose and serological response to infection. **J. Infect. Dis.**, v. 154, n. 5, p. 871-880, 1986.

WASLEY, A.; FIORE, A.; BELL, B. P. Hepatitis A in the era of vaccination. **Epidemiol Rev.**, v. 28, n. 1, p. 101-111, 2006.

WILLIAMSON, S. J.; RUSCH, D. B.; YOOSEPH, S.; HALPERN, A. L.; HEIDELBERG, K. B.; GLASS, J. I.; ANDREWS-PFANNKOCH, C.; FADROSH, D.; MILLER, C. S.; SUTTON, G. The sorcerer II global ocean sampling expedition: metagenomic characterization of viruses within aquatic microbial samples. **PLoS ONE**, v. 3, n. 1, p. 1-14, 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Emerging issues in water and infectious disease. 2003. Disponivel em: <www.who.int/ water_sanitation_health/emerging/emerging.pdf>. Acesso em: 16 jul 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for drinking-water quality**. 3. ed. Geneva: WHO, 2008. 668 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Hepatitis A. 2014. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs328/en/>. Acesso em: 15 jul. 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for drinking-water quality**. 4th ed. 2011. Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44584/1/9789241548151_eng.pdf>. Acesso em: 16 Jul 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Outbreaks of Waterborne Diseases, Fact Sheet 1.1. RPG1_WatSan_E1, 2007. Disponível em: < http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0006/97359/1.1.pdf?ua=1>. Acesso em: 16 jul. 2014.

WYN-JONES, A. P.; SELLWOOD, J. Enteric viruses in the aquatic environment. **J. Appl. Microbiol.**, v. 91, n. 6, p. 945-962, 2001.

YATES, M. V.; GERBA, C. P.; KELLEY, L. M. Virus persistence in ground-water. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 49, n. 4, p. 778-781, 1985.

YE, X. Y.; MING, X.; ZHANG, Y. L.; XIAO, W. Q.; HUANG, X. N.; CAO, Y. G.; GU, K. D. Real-time PCR detection of enteric viruses in source water and treated drinking water in Wuhan, China. **Curr. Microbiol.**, v. 65, n. 3, p. 244-253, 2012.

YOSHIZAWA, H.; ITOH, Y.; IWAKIRI, S.; TSUDA, F.; NAKANO, S.; MIYAKAWA, Y.; MAYUMI, M. Diagnosis of type A hepatitis by fecal IgA antibody against hepatitis A antigen. **Gastroenterol.**, v. 781, n. 1, p. 114-118.

VÍRUS DA HEPATITE A
e sua relação com os
PARÂMETROS DE QUALIDADE DA ÁGUA
PARA CONSUMO HUMANO

www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br
@atenaeditora
www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Atena Editora
Ano 2024

VÍRUS DA HEPATITE A
e sua relação com os
PARÂMETROS DE QUALIDADE DA ÁGUA
PARA CONSUMO HUMANO

www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br
@atenaeditora
www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Atena Editora
Ano 2024